

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

**MAURO FLEURY DE TOLEDO FILHO**

**EFEITO DA ESTRATÉGIA DE ALIMENTAÇÃO DO AnSBBR UTILIZADO NO  
TRATAMENTO DE DRENAGEM ÁCIDA SINTÉTICA DE MINA**

Poços de Caldas/MG

2018

**MAURO FLEURY DE TOLEDO FILHO**

**EFEITO DA ESTRATÉGIA DE ALIMENTAÇÃO DO AnSBBR UTILIZADO NO  
TRATAMENTO DE DRENAGEM ÁCIDA SINTÉTICA DE MINA**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Ciência e Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Alfnas – *campus* Poços de Caldas, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia Ambiental. Área de concentração: Tratamento de Efluentes.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Henrique Soares Damasceno

Coorientador: Prof. Dr. Rafael Brito de Moura

Poços de Caldas/MG

2018

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

T649e Toledo Filho, Mauro Fleury de.

Efeito da estratégia de alimentação do AnSBBR utilizado no tratamento de drenagem ácida sintética de mina / Mauro Fleury de Toledo Filho. -- Poços de Caldas/MG, 2018.

147 f. –

Orientador(a): Leonardo Henrique Soares Damasceno. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Alfenas, campus Poços de Caldas, 2018. Bibliografia.

1. Engenharia Ambiental. 2. Minas - Drenagem. 3. Águas residuais – Purificação. I. Damasceno, Leonardo Henrique Soares. II. Título.

CDD – 628

MAURO FLEURY DE TOLEDO FILHO

**EFEITO DA ESTRATÉGIA DE ALIMENTAÇÃO DO AnSBBR UTILIZADO NO  
TRATAMENTO DE DRENAGEM ÁCIDA SINTÉTICA DE MINA**

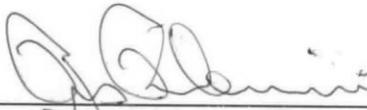
A banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia Ambiental, pelo Programa de Pós Graduação em Ciência e Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Tratamento de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

Aprovado em: 28/08/2018



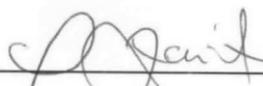
Prof. Dr. Leonardo Henrique Soares Damasceno

Instituição: Universidade Federal de Alfenas – Unifal -MG



Prof. Dr. Rogers Ribeiro

Instituição: Universidade de São Paulo – USP



Prof. Dr. Marcelo Zaiat

Instituição: Universidade de São Paulo – USP

*Às vênha, Duzolina e Adélia, e ao tio Zé.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao dom da vida e por todas as circunstâncias que me trouxeram até este instante de tempo.

Aos meus pais, Mauro e Teresa, por toda confiança depositada em mim ao longo dessa caminhada e toda dedicação para que eu e minha irmã tivéssemos a melhor qualidade de vida possível. Essa conquista é merecidamente de vocês! Obrigado, pai e mãe, do fundo do coração!

À minha irmã, Raíssa, pela cumplicidade de todos esses anos e por levar a vida com tamanha leveza, contagiando tudo que a cerca. Gratidão, Rá!

Aos irmãos da República Camorra, que tive o imenso prazer de ter como família desde 2012, por todos os momentos vividos e perpetuados em minha memória até aqui. Sem vocês, a Neusinha e a Carmen Lúcia, essa conquista não valeria tanto a pena. Vida longa sempre, *famiglia*.

Ao meu grande amigo, dono de um coração gigante e professor Dr. Leonardo Damasceno, por tudo que fez por mim durante o período do Mestrado, desde a orientação até as conversas sempre embasadas no bom humor. Tamo junto, gordinho!

Ao amigo engenheiro ambiental MSc. Luiz Francisco Pereira por todo o conhecimento técnico-científico transmitido, e também, pelos grandiosos conselhos e ensinamentos de vida disseminados.

Aos amigos do Biotech, por tornar a rotina laboratorial, sem dúvida nenhuma, muito mais prazerosa e divertida.

Aos amigos da segurança, em especial ao Denis, Fredi, Guilherme e Valdemir pela amizade criada, pelo excelente trabalho executado na Universidade e por toda ajuda nesse ano de rotina laboratorial.

Ao químico Dr. Adriano Barbosa, por ser sempre solícito e por todo auxílio imediato envolvendo os procedimentos de cromatografia gasosa.

Ao amigo engenheiro ambiental Dr. Cláudio Jr. por todo ensinamento transmitido desde os tempos de iniciação científica.

Aos servidores, Ícaro, Mansueto e Robson por todo auxílio na construção das instalações elétricas do experimento.

Ao professor Dr. Antônio Donizetti Gonçalves de Souza pelo empréstimo dos equipamentos que possibilitaram a realização dos ensaios hidrodinâmicos.

Ao CNPq e a CAPES pelo fornecimento dos recursos financeiros que tornaram possível a execução do projeto e pela bolsa de Mestrado.

Aos técnicos dos laboratórios, às moças da limpeza, e a equipe dos serviços gerais pelo tratamento sempre gentil e pelo ótimo serviço prestado, buscando as melhores condições para todos aqueles que usufruem da Universidade. Parabéns pelo empenho!

A todos que passaram pelo caminho e que contribuíram de alguma forma para o final feliz dessa história.

Ao Deus de Espinoza, revelado na harmonia de tudo que existe.

“De nada adianta o êxito, se você não aproveita a longa jornada até alcançá-lo.”

Yohan M. Blake

## RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo principal avaliar o efeito da estratégia de alimentação do reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada em material suporte (AnSBBR) e recirculação da fase líquida no tratamento de drenagem ácida sintética de mina (DASM). Três concentrações afluentes de  $\text{SO}_4^{2-}$  relacionadas a três cargas aplicadas de  $\text{SO}_4^{2-}$  foram estudadas:  $1,5 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  na condição A,  $3,0 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  na condição B e  $4,5 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  na condição C. Para cada condição, a mudança na estratégia de alimentação foi feita após a estabilização do sistema e o posterior registro dos perfis temporais. Dessa forma, as estratégias adotadas foram aplicadas sempre na seguinte ordem: batelada, batelada alimentada de 2h e batelada alimentada de 4h. Em todas as situações, o pH de entrada da DASM variou entre 3,0 e 3,3 e as concentrações de entrada de ferro, zinco e cobre foram mantidas constantes em  $100 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $20 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $5 \text{ mg.L}^{-1}$ , respectivamente. Soro de leite foi usado como fonte de carbono e adicionado à DASM de modo a atingir uma relação DQO/ $\text{SO}_4^{2-}$  inicial de 2,0. O sistema era totalmente descarregado e capaz de tratar 2,8 L da DASM em ciclos de 8h com temperatura de operação mantida em  $30 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ . O reator foi inoculado com biomassa anaeróbia proveniente de um UASB em escala de bancada usado para tratar a mesma água residuária. Antes da operação do AnSBBR, estudos hidrodinâmicos abióticos provaram que a recirculação da fase líquida garante a homegeinização completa do sistema num intervalo de tempo irrelevante se comparado ao tempo total de ciclo e que o regime de fluxo no leito do reator se aproxima do comportamento pistonado. Durante a fase de batelada da condição A, a sulfetogênese foi predominante no reator, visto a alta eficiência de remoção de sulfato com valor médio atingindo  $(97 \pm 1)\%$ , remoção média de  $\text{Fe}^{2+}$  de  $(95 \pm 1)\%$ , e remoção média de  $(61 \pm 1)\%$  da DQO solúvel. Ao aumentar tempo de enchimento nessa condição, o desempenho do AnSBBR diminuiu gradativamente. A eficiência média de remoção de  $\text{SO}_4^{2-}$  foi equivalente a  $(90 \pm 3)\%$  e  $(77 \pm 3)\%$  para as estratégias de batelada alimentada de 2h e batelada alimentada de 4h, respectivamente. Por outro lado, a alimentação gradativa afetou positivamente o sistema na condição B. Ao elevar a carga orgânica aplicada, apenas  $(40 \pm 8)\%$  das moléculas de  $\text{SO}_4^{2-}$  foram convertidas na condição de batelada por ter-se um favorecimento da atividade de bactérias hidrolíticas e acidogênicas perante às bactérias redutoras de sulfato (BRS). Porém, a batelada alimentada de 4h garantiu uma maior disponibilidade de substratos orgânicos, atenuando a competição entre as espécies microbianas e contribuindo para um aumento na remoção média de  $\text{SO}_4^{2-}$ , atingindo  $(61 \pm 1)\%$ . A remoção média de  $\text{Fe}^{2+}$  decaiu com o aumento do tempo de enchimento, já a de DQO foi estatisticamente semelhante para todas as estratégias de alimentação adotadas, provando, mais uma vez, um maior direcionamento de moléculas orgânicas para as rotas sulfetogênicas na estratégia de 4h de alimentação. Na condição C, os testes ANOVA apontam a mesma eficiência média de remoção de  $\text{SO}_4^{2-}$  e DQO, independente da estratégia de alimentação adotada. Entretanto, os máximos valores de remoção de  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $(62 \pm 8)\%$ , e uma maior estabilidade operacional foram obtidos na batelada alimentada de 4h. Os resultados deste estudo mostram que a estratégia de batelada é a melhor opção para tratamento da DASM em questão quando a carga orgânica aplicada atinge valores próximos de  $3,0 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  e que a alimentação gradual de 4h garante maiores reduções de  $\text{SO}_4^{2-}$  para cargas orgânicas variando entre  $6,0 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  e  $9,0 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ .

Palavras-chave: Drenagem ácida de mina. AnSBBR. Bactérias redutoras de sulfato. Estratégias de alimentação.

## ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the feeding strategy effect on anaerobic sequencing batch reactor with recirculation of liquid phase and immobilized biomass on polyurethane foam (AnSBBR) used for treating synthetic acid mine drainage (AMD). Three affluent sulfate concentrations related to three applied sulfate loading rate were tested:  $1,5 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  in condition A,  $3,0 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  in condition B and  $4,5 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  in condition C. For each condition, feeding strategy transition was made after system stabilization and time profile data collection. Thus, strategies were applied always in this order: batch, fed-batch (2h) and fed-batch (4h). In all situations, synthetic wastewater affluent pH varied between 3,0 and 3,3 and dissolved iron, copper and zinc affluent concentrations were kept constant at  $100 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $20 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $5 \text{ mg.L}^{-1}$ , respectively. Whey was used as carbon source and added to synthetic AMD to reach COD/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> ratio equal to 2,0. System was always fully discharged and able to treat 2,8 L of wastewater in 8h cycles at  $30\pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Reactor was inoculated with anaerobic biomass from a bench scale UASB used for same wastewater treatment. Before starting AnSBBR operation, abiotic hydrodynamics assays were assessed proving liquid phase recirculation provided system complete homogenization in an irrelevant time interval when compared to total cycle time and flow through reactor bed approaches plug flow. During batch phase in condition A, metabolic pathway of sulfetogenesis predominated in the system, providing average sulfate removal efficiency of  $(97\pm 1)\%$ , average iron removal efficiency of  $(95\pm 1)\%$  and average soluble COD removal efficiency of  $(61\pm 1)\%$ . By increasing filling time, AnSBBR performance gradually decreased in that condition. Sulfate average removal efficiency was equal to  $(90\pm 3)\%$  and  $(77\pm 3)\%$  for 2h fed batch and 4h fed batch, respectively. In contrast, gradual filling strategy was satisfactory for the system in condition B. With higher applied organic loading rate, just  $(40\pm 8)\%$  of SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> influent molecules were reduced in batch mode because hydrolytic and acidogenic bacteria were more adapted to wastewater conditions and outcompeted sulfate reducers bacteria (SRB). However, 4h fed-batch caused higher organic matter availability, decreased substrate competition and enhanced SBR activity, reaching average sulfate removal efficiency of  $(61\pm 1)\%$ . Average iron removal efficiency decayed with filling time increase and organic matter removal was statistically the same for all phases, ensuring a higher organic molecules destination to sulfetogenesis metabolic pathway in 4h gradual feeding. In condition C, ANOVA tests pointed average COD and SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> removal efficiencies were the same for all feeding strategies studied. Nevertheless, maximum SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> removal efficiencies,  $(62\pm 8)\%$ , and higher operational stability were achieved on 4h fed batch mode. The results of this study show batch strategy is the best option for this synthetic AMD treatment on AnSBBR when applied organic loading rate reach values approaching  $3,0 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ , and gradual feeding strategy of 4h ensures higher SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> reduction for applied organic loading rates varying between  $6,0 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  and  $9,0 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ .

Keywords: Acid mine drainage. AnSBBR. Sulfate reducers bacteria. Feeding strategy.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Representação do sistema em escala de bancada.....	32
Figura 2 - Sistema montado em operação .....	33
Figura 3- Representação do sistema em escala de bancada a partir da condição B .....	34
Figura 4 - Esquema utilizado na determinação das curvas de distribuição do tempo de residência .....	40
Figura 5 - Fluxograma das etapas realizadas ao longo do experimento .....	42
Figura 6 - Rotas metabólicas consideradas para a modelagem cinética.....	54
Figura 7 – Comportamento estatístico dos resíduos para diferentes vazões estudadas.....	58
Figura 8 - Comportamento da variância dos dados experimentais de condutividade nos ensaios de mistura para as vazões de 10 L.h <sup>-1</sup> e 20 L.h <sup>-1</sup> .....	59
Figura 9 – Ajuste do modelo sigmoidal de Boltzmann aos dados experimentais .....	60
Figura 10 - Ajuste do modelo Subamortecido e da Sigmóide de Boltzmann aos dados experimentais manipulados .....	62
Figura 11 - Curvas E <sub>θ</sub> e modelos tradicionais ajustados para cada vazão de recirculação na situação de cauda alongada.....	65
Figura 12 - Situação do fluxo no leito do AnSBRR utilizando a técnica de pulso rebatido ....	67
Figura 13 - Sulfato monitorado ao longo da operação .....	70
Figura 14 - pH monitorado ao longo da operação .....	71
Figura 15 - Fe <sup>2+</sup> monitorado ao longo da operação .....	71
Figura 16 - STD ao fim de ciclo monitorado ao longo da operação .....	72
Figura 17 - DQO monitorada ao longo da operação .....	73
Figura 18 - Biomassa acumulada no módulo receptor ao final da fase III-A.....	74
Figura 19 - Espuma de poliuretano retiradas da (A) última câmara e (B) penúltima câmara do leito na fase I-B.....	75
Figura 20 - Camada de lodo densa e maciça formada por toda superfície das grades que separavam os compartimentos do leito.....	76
Figura 21 - Variação do pH relatado na fase de Adaptação .....	78
Figura 22 – Variação da alcalinidade no fim de ciclo relatada na fase de Adaptação .....	79
Figura 23 - Variação das concentrações de (A) SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> e (B) STD no fim de ciclo relatados na fase de Adaptação .....	80
Figura 24 - Distribuição do STD no final do ciclo relatada na fase de Adaptação .....	81
Figura 25 - Variação da DQO relatada na fase de Adaptação.....	82
Figura 26 - Variação das concentrações (A) de ácido acético e ácido propiônico ao fim de ciclo e (B) alcalinidade a bicarbonato ao fim de ciclo na fase de Adaptação .....	82
Figura 27 - Espécies químicas ao longo do perfil da fase de Adaptação .....	84
Figura 28 - Alcalinidade medida (A) e alcalinidade à bicarbonato (B) obtidas no perfil da fase de Adaptação .....	85
Figura 29 - Variação do pH ao longo do perfil temporal da fase de Adaptação .....	85
Figura 30 - Comportamento experimental e comportamento teórico predito pelo modelo I das espécies DQO <sub>MO</sub> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> e Acetato durante o perfil da fase de Adaptação .....	87
Figura 31 - Variação da DQO e das concentrações de SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> em cada fase da condição A.....	89
Figura 32 - Boxplot para remoção de SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> em cada fase da condição A.....	90
Figura 33 - COA, CSA, COR e CSR em cada fase da condição A.....	91
Figura 34 - Variação das concentrações de FTD, Fe <sup>2+</sup> e STD em cada fase da condição A....	93

Figura 35 - Boxplot das concentrações de sulfeto ao fim do ciclo em cada fase da condição A .....	94
Figura 36 - Boxplot para a remoção de $Fe^{2+}$ em cada fase da condição A.....	95
Figura 37 - Variação da alcalinidade ao final do ciclo e do pH em cada fase da condição A..	96
Figura 38 - Diagrama Pourbaix para o ferro.....	98
Figura 39 - Comparação entre o consumo do $SO_4^{2-}$ de acordo com a aplicação de métodos diferentes.....	100
Figura 40 - Perfis temporais de $SO_4^{2-}$ , DQO e $HA_C$ para cada fase da condição A .....	101
Figura 41 - Perfil temporal do $HA_C$ na fase preliminar de Adaptação e na fase I-A .....	102
Figura 42 - Perfis temporais de $Fe^{2+}$ e STD para cada fase da condição A.....	104
Figura 43 - Perfis temporais de alcalinidade e do pH para cada fase da condição A .....	105
Figura 44 - Comportamento experimental e comportamento teórico, predito pelo modelo I, das espécies $DQO_{MO}$ , $SO_4^{2-}$ e Acetato durante o perfil da fase I-A .....	107
Figura 45 - Variação da DQO e das concentrações de $SO_4^{2-}$ em cada fase da condição B....	110
Figura 46 - Boxplot para remoção de $SO_4^{2-}$ em cada fase da condição B.....	111
Figura 47 - COA, CSA, COR e CSR em cada fase da condição B .....	112
Figura 48 - Variação da alcalinidade ao final dos ciclos e do pH em cada fase da condição B .....	113
Figura 49 - Distribuição das espécies de AOV na transição entre as fases III-A e I-B.....	115
Figura 50 - Variação das concentrações de FTD, $Fe^{2+}$ e STD em cada fase da condição B..	116
Figura 51 - Perfis temporais de $SO_4^{2-}$ e DQO para cada fase da condição B.....	118
Figura 52 - Distribuição de AOV nos perfis temporais para cada fase da condição B .....	119
Figura 53 - Perfis temporais de $Fe^{2+}$ e STD para cada fase da condição B.....	121
Figura 54 - Espécies oxidadas de ferro na superfície do material suporte retirado na fase I-B .....	122
Figura 55 - Perfis temporais de alcalinidade e pH para cada fase da condição B .....	122
Figura 56 - Comportamento experimental e comportamento teórico predito pelo modelo II das espécies $DQO_{MO}$ , $SO_4^{2-}$ e Acetato no perfil temporal da fase I-B.....	124
Figura 57 - Variação da DQO e das concentrações de $SO_4^{2-}$ em cada fase da condição C....	127
Figura 58 - Boxplot para as remoções de (A) $SO_4^{2-}$ e (B) DQO em cada fase da condição C .....	127
Figura 59 - COA, CSA, COR e CSR em cada fase da condição C .....	129
Figura 60 - Variação das concentrações de FTD, $Fe^{2+}$ e $H_2S$ em cada fase da condição C ...	130
Figura 61 - Variação da alcalinidade ao final dos ciclos e do pH em cada fase da condição C .....	131
Figura 62 - Perfis temporais de $SO_4^{2-}$ e DQO para cada fase na condição C .....	133
Figura 63 - Perfis temporais de $Fe^{2+}$ e STD para cada fase na condição C.....	133
Figura 64 - Perfis temporais de pH e alcalinidade intermediária para cada fase na condição C .....	134
Figura 65 - Variação das cargas removidas de acordo com as cargas aplicadas, para $SO_4^{2-}$ e DQO, considerando ainda as estratégias de alimentação adotadas .....	135
Figura 66 - Curvas $E_{\theta}$ e modelos de Levenspiel ajustados para a vazão de recirculação de $10 L.h^{-1}$ nos ensaios (A) biótico com DASM e (B) biótico com água.....	140

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Variação de sulfato para cada condição .....	41
Tabela 2 - Estratégias de alimentação que serão adotadas .....	41
Tabela 3 - Massa pesada para fabricação da DASM (10 L) .....	44
Tabela 4 - Modelos utilizados para o ajuste hidrodinâmico .....	49
Tabela 5 - Estimativa dos parâmetros ajustados e tempo total de mistura com erro padrão para o ajuste da Sigmoide de Boltzmann .....	59
Tabela 6 - Estimativa dos parâmetros ajustados e tempo total de mistura com erro padrão para o modelo Subamortecido .....	61
Tabela 7 - Resultados obtidos após aplicação dos critérios de avaliação para modelos não lineares .....	63
Tabela 8 - Parâmetros obtidos pelo ajuste dos modelos N-CSTR e Grande Dispersão aos dados do ensaio hidrodinâmico com o AnSBBR operando de forma contínua ....	65
Tabela 9 - Volume útil e tempo de detenção calculados para os dados brutos do ensaio hidrodinâmico e os dados manipulados por meio do pulso rebatido .....	66
Tabela 10 - Volume útil do sistema obtido pelo ensaio de mistura (método Subamortecido) e pelo método de Pico .....	68
Tabela 11 - Duração de cada fase estudada .....	69
Tabela 12 - Estimativa dos parâmetros do modelo I ajustado aos dados dos perfis temporais das espécies $DQO_{MO}$ , $SO_4^{2-}$ e Acetato para a fase de Adaptação .....	86
Tabela 13 - Variáveis monitoradas ao longo da condição A .....	88
Tabela 14 - Concentração de FTD e $Fe^{2+}$ obtidas pelo método colorimétrico na condição A .....	98
Tabela 15 - Estimativa dos parâmetros do modelo I ajustado aos dados dos perfis temporais das espécies $DQO_{MO}$ , $SO_4^{2-}$ e Acetato para a fase I-A .....	106
Tabela 16 - Variáveis monitoradas ao longo da condição B .....	109
Tabela 17 - Estimativa dos parâmetros do modelo II ajustado aos dados dos perfis temporais das espécies $DQO_{MO}$ , $SO_4^{2-}$ e Acetato para a fase I-B .....	123
Tabela 18 - Variáveis monitoradas ao longo da condição C .....	126
Tabela 19 - Média das cargas aplicadas, removidas e eficiências de remoção para $SO_4^{2-}$ e DQO relacionadas a cada fase estudada .....	136
Tabela 20 - Média das concentrações de $FTD_A$ e $Fe^{2+}_R$ e eficiência de remoção de $Fe^{2+}$ .....	136
Tabela 21 - Média de $SO_4^{2-}_A$ , $SO_4^{2-}_R$ , CSA, CSR, $DQO_A$ , $DQO_R$ , COA, COR e das eficiências de remoção para $SO_4^{2-}$ e DQO relacionadas a cada fase estudada .....	139
Tabela 22 - Parâmetros obtidos pelo ajuste do modelo N-CSTR e de Grande Dispersão aos dados oriundos dos ensaios bióticos para a vazão de $10 L^{-1}.h$ .....	140

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>I</b>	- Estratégia de alimentação em Batelada
<b>II</b>	- Estratégia de Alimentação em Batelada Alimentada de 2h
<b>III</b>	- Estratégia de Alimentação em Batelada Alimentada de 4h
<b>ADM1</b>	- Modelo de Digestão Anaeróbia nº 1
<b>AMA</b>	- Arqueias Metanogênicas Acetoclásticas
<b>AnSBBR</b>	- Reator Anaeróbio Operado em Bateladas Sequenciais com Biomassa Imobilizada em Suporte Inerte
<b>AnSBR</b>	- Reator Anaeróbio Operado em Bateladas Sequenciais
<b>AOV</b>	- Ácidos Orgânicos Voláteis
<b>B</b>	- Batelada
<b>BA</b>	- Batelada Alimentada
<b>BRS</b>	- Bactéria Redutoras de Sulfato
<b>COA</b>	- Carga Orgânica Aplicada
<b>COR</b>	- Carga Orgânica Removida
<b>CSA</b>	- Carga de Sulfato Aplicada
<b>CSR</b>	- Carga de Sulfato Removida
<b>SO<sub>4</sub><sup>2-</sup><sub>A</sub></b>	- Concentração de Sulfato Afluente
<b>SO<sub>4</sub><sup>2-</sup><sub>R</sub></b>	- Concentração de Sulfato Residual ao final do Ciclo
<b>DASM</b>	- Drenagem Ácida Sintética de Mina
<b>DQO</b>	- Demanda Química de Oxigênio
<b>DQO<sub>A</sub></b>	- DQO Afluente
<b>DQO<sub>R</sub></b>	- DQO Residual ao final do Ciclo
<b>DQO<sub>MO</sub></b>	- Demanda Química de Oxigênio proveniente da Matéria Orgânica Disponível
<b>DTR</b>	- Distribuição do Tempo de Residência
<b>ε<sub>DQO</sub></b>	- Eficiência de remoção de DQO
<b>ε<sub>SO<sub>4</sub><sup>2-</sup></sub></b>	- Eficiência de remoção de Sulfato
<b>FTD</b>	- Ferro Total Dissolvido
<b>HA<sub>C</sub></b>	- Ácido Acético
<b>HB<sub>U</sub></b>	- Ácido Butírico

- MO<sub>CL</sub>** - Matéria Orgânica de Cadeias Longas
- STD** - Sulfeto Total Dissolvido
- t<sub>c</sub>** - Tempo de Ciclo
- TDH** - Tempo de Detenção Hidráulica

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>17</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>18</b>
3.1	DRENAGEM ÁCIDA DE MINA .....	18
3.2	TRATAMENTO DA DAM .....	20
3.3	BACTÉRIAS REDUTORAS DE SULFATO.....	23
<b>3.3.1</b>	<b>Atividade em baixo pH</b> .....	<b>24</b>
3.4	REATORES DESCONTÍNUOS .....	26
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>31</b>
4.1	EQUIPAMENTO EXPERIMENTAL .....	31
<b>4.1.1</b>	<b>Configuração do reator</b> .....	<b>31</b>
4.2	ENSAIO DE MISTURA .....	35
<b>4.2.1</b>	<b>Aparato experimental</b> .....	<b>35</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Metodologia do ensaio</b> .....	<b>36</b>
4.3	ESTUDO HIDRODINÂMICO NO MODO CONTÍNUO .....	37
<b>4.3.1</b>	<b>Aparato experimental</b> .....	<b>39</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Metodologia do ensaio</b> .....	<b>39</b>
4.4	OPERAÇÃO DO REATOR NO TRATAMENTO DA DASM .....	40
<b>4.4.1</b>	<b>Equipamento</b> .....	<b>40</b>
<b>4.4.2</b>	<b>Operação do reator</b> .....	<b>40</b>
<b>4.4.3</b>	<b>Água residuária – Drenagem Ácida Sintética de Mina</b> .....	<b>43</b>
<b>4.4.4</b>	<b>Inóculo</b> .....	<b>44</b>
<b>4.4.5</b>	<b>Análises físico-químicas</b> .....	<b>44</b>
<b>4.4.6</b>	<b>Imobilização da biomassa</b> .....	<b>45</b>
4.3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....	45
<b>4.3.1</b>	<b>Tempo de mistura</b> .....	<b>45</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Ensaio hidrodinâmico no modo contínuo</b> .....	<b>48</b>
<b>4.3.3</b>	<b>Regressão não linear</b> .....	<b>50</b>
<b>4.3.4</b>	<b>Eficiência de remoção, carga aplicada e removida</b> .....	<b>51</b>
<b>4.3.5</b>	<b>Ensaio e modelagem cinética</b> .....	<b>52</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>56</b>
5.1	ENSAIOS HIDRODINÂMICOS ABIÓTICOS .....	56
<b>5.1.1</b>	<b>Tempo de mistura</b> .....	<b>56</b>
5.1.1.1	Análise estatística preliminar .....	57
5.1.1.2	Ajuste dos modelos .....	59
<b>5.1.2</b>	<b>Regime de fluxo no modo contínuo</b> .....	<b>64</b>
<b>5.1.3</b>	<b>Volume útil do reator e sistema</b> .....	<b>67</b>
5.2	OPERAÇÃO DO ANSBBR.....	68
<b>5.2.1</b>	<b>Considerações gerais</b> .....	<b>69</b>
<b>5.2.2</b>	<b>Fase preliminar - Adaptação</b> .....	<b>76</b>
5.2.2.1	Perfis temporais e modelagem cinética.....	84
<b>5.2.3</b>	<b>Condição A</b> .....	<b>88</b>

5.2.3.1	Interferência na análise de $\text{SO}_4^{2-}$ .....	96
5.2.3.2	Perfis temporais e modelagem cinética.....	100
5.2.3.3	Aspectos principais .....	107
<b>5.2.4</b>	<b>Condição B.....</b>	<b>108</b>
5.2.4.1	Perfis temporais e modelagem cinética.....	117
5.2.4.2	Aspectos principais .....	124
<b>5.2.5</b>	<b>Condição C .....</b>	<b>125</b>
5.2.5.1	Perfis temporais .....	131
5.2.5.2	Aspectos principais .....	134
<b>5.2.6</b>	<b>Comparação geral.....</b>	<b>135</b>
5.3	ENSAIOS HIDRODINÂMICOS BIÓTICOS .....	140
<b>5.3.1</b>	<b>Regime de fluxo no modo contínuo .....</b>	<b>140</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>142</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>143</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A exploração não sustentável de minérios praticada exageradamente no passado e ainda em continuidade, mesmo com proporções menores, contribui por gerar problemas ambientais bastante significativos. Dentre esses problemas, as águas residuárias ricas em sulfato, maior fonte poluidora em termos de volume lançado, quando não tratadas, impactam negativamente a biota aquática e a utilização dos recursos hídricos, seja para fins domésticos quanto para industriais.

Esse efluente da mineração recebe o nome de Drenagem Ácida de Mina (DAM), e é resultado da oxidação de minérios constituintes de sulfeto em ácido sulfúrico, como a pirita, que diminui drasticamente o pH do meio líquido, proporciona a solubilização de uma grande gama de metais. Sendo assim, é de fundamental importância o tratamento desse tipo de resíduo. As possibilidades usuais para tal feito são: o tratamento físico-químico, em que se adicionam compostos alcalinos nas áreas contaminadas, elevando o pH do meio e precipitando aqueles metais solubilizados; e o tratamento biológico, em que se concentra, dentro de uma estrutura projetada, um consórcio microbiano, capaz de converter as moléculas de sulfato nas mais variadas formas de sulfeto, favorecendo, assim, a precipitação dos elementos metálicos.

Os reatores, em escala plena, que concentram a biomassa são candidatos com enorme potencial para o tratamento da DAM, já que são menos custosos e apresentam resultados satisfatórios na remoção dos poluentes. Porém, algumas condições operacionais ainda precisam ser estudadas, de maneira mais detalhada, para uma otimização do processo, como é o caso do uso de reator em batelada alimentada. Esse tipo de reator pode propiciar condições específicas da razão substrato/microrganismo de forma que a produção de moléculas tóxicas, geradas no processo de redução do sulfato, seja amenizada.

## 2 OBJETIVOS

O objetivo deste projeto é analisar o comportamento de um reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada (AnSBBR) para tratamento de drenagem ácida de mina, variando as estratégias de alimentação e a carga de sulfato alimentada. Os seguintes objetivos específicos foram estabelecidos:

- a) Modelar o tempo de mistura do sistema reator-reservatório e o comportamento hidrodinâmico do reator preenchido com espuma nas situações abiótica e biótica;
- b) Estudar a possibilidade de otimização de desempenho do sistema, estabelecendo diferentes estratégias de alimentação (batelada e batelada alimentada);
- c) Estudar a aplicação de cargas de sulfatos crescentes, mantendo a relação  $DQO/SO_4^{2-}$  constante, a fim de se avaliar o desempenho do reator e também, a estabilidade aparente.
- d) Determinar os parâmetros cinéticos de remoção de  $SO_4^{2-}$  e DQO, durante os perfis temporais registrados em cada condição operacional estudada, a fim de prever quais rotas metabólicas da digestão anaeróbia foram acessadas;

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 DRENAGEM ÁCIDA DE MINA

A DAM oriunda, na maioria das vezes de um fenômeno de oxidação de minerais sulfetados, pode ser produzida dentro da cava da mina ou até mesmo em superfícies abertas e expostas ao ar atmosférico, como na deposição de rejeitos e estéril. No caso dos rejeitos a céu aberto, as águas ácidas se originam nas partes mais superficiais, infiltram-se ao longo dos próprios rejeitos permeáveis, levando consigo os metais lixiviados, e se acumulam na parte mais inferior daquelas pilhas de rejeito. Em decorrência desse fenômeno, o baixo pH das águas contribui para a solubilização dos metais existentes no meio. Em ambos os casos, existe a possibilidade de se atingir os cursos hídricos e acarretar problemas ambientais bastante significativos (DOMINGUES; BOSON; ALÍPAZ, 2006).

A ocorrência da DAM nos campos de mineração depende da combinação de fatores químicos, físicos e bioquímicos, de caráter natural e espontâneo. Todos esses fatores são variáveis, na intensidade, em cada local de exploração, e, por isso, torna-se extremamente difícil avaliar os impactos ambientais da drenagem de uma maneira universal. Apesar dessa variabilidade de impacto, é sabido que na presença de minerais sulfetados, água ou umidade atmosférica, e um agente oxidante, como, o oxigênio, tem-se, geralmente, a formação da DAM. Além desses, baixos valores de pH, altas temperaturas, atividade química do  $\text{Fe}^{3+}$ , e a atividade bacteriana também desempenham papel importante para a aceleração do processo de produção das águas ácidas (AKCIL; KOLDAS, 2006).

O processo de oxidação dos metais sulfetados, evento que simboliza o início da produção de drenagem ácida, se dá a partir de, apenas, duas rotas reacionais: o mecanismo do tiosulfato ou o mecanismo do polisulfeto (ROHWERDER, 2003). A solubilidade ácida de cada metal sulfetado, entendida como a vulnerabilidade desse metal em ser atacado por prótons, é o fator principal que determina a rota reacional a ser seguida. Os metais sulfetados, como a pirita ( $\text{FeS}_2$ ), a molibdenita ( $\text{MoS}_2$ ) e tungstenita ( $\text{WS}_2$ ), são oxidados a partir do mecanismo do tiosulfato. Na primeira etapa dessa reação, os íons de  $\text{Fe}^{3+}$  atuam como agente oxidante sobre o sulfeto metálico, por meio da extração de elétrons. Como resultado, tem-se a presença de ferro na forma reduzida,  $\text{Fe}^{2+}$ , a liberação dos cátions metálicos,  $\text{M}^+$ , e compostos intermediários solúveis a base de sulfeto, como o tiosulfato. Na presença de oxigênio, de  $\text{Fe}^{3+}$ , e de bactérias oxidantes de ferro, a reação continua, e aqueles compostos intermediários

são levados, por fim, à  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{H}^+$  e uma pequena porção de sulfeto elementar (este último apenas se as bactérias oxidantes de sulfeto não estiverem presentes) (SCHIPPERS, 1999).

O restante dos sulfetos metálicos existentes é oxidado a partir do mecanismo do polissulfeto. Nesse processo reacional, os compostos são oxidados tanto pela ação oxidante do  $\text{Fe}^{3+}$  quanto pela ação de prótons em solução. Na presença de dois átomos de  $\text{H}^+$ , cátions do metal e sulfeto de hidrogênio são liberados. Da mesma maneira que o outro mecanismo, se as bactérias oxidantes se encontram presentes, existe a formação de produtos finais como o sulfato, os cátions de hidrogênio e, em sua maior parte, o sulfeto elementar. Porém, quando o ferro (III) está presente no meio, apenas um próton é utilizado para liberar os cátions metálicos e, conseqüentemente, ocorre a formação das mais variadas formas de polissulfetos e seus respectivos radicais, que também são convertidos nos mesmos produtos, inclusive em enxofre elementar, presente em maiores quantidades nessa etapa (SCHIPPERS, 1999).

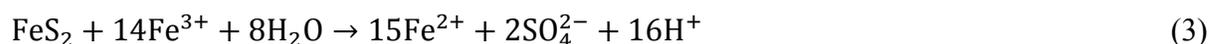
De uma maneira geral e adotando a pirita ( $\text{FeS}_2$ ) como mineral sulfetado, o seguinte conjunto de reações é observado na formação da DAM, começando pela oxidação deste mineral (AKCIL; KOLDAS, 2006):



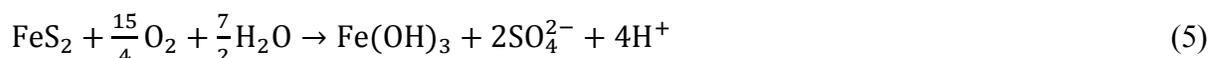
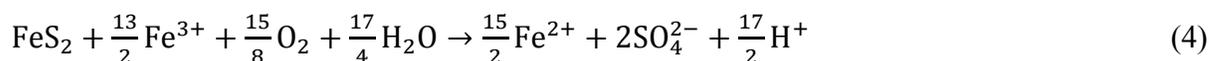
Essa reação provoca uma redução do pH da solução, e, posteriormente, ocorre a formação de íon férrico a partir da oxidação de grande parte do íon ferroso:



Se o meio possui pH entre 2 e 3 ou 3 e 5, o íon férrico precipita como hidróxido de ferro  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ . O restante do  $\text{Fe}^{3+}$ , que ainda se encontra solúvel, é responsável também por oxidar a pirita, produzindo mais moléculas de sulfato e acidificando, ainda mais, o meio:



Dessa forma, as reações globais que proporcionam a formação da drenagem, são as que apresentam como um dos produtos finais, o ferro na fase sólida e o mesmo na fase dissolvida. Essas reações acontecem simultaneamente, como já foi dito, e são mostradas a seguir:



Portanto, além da remoção de metais, vislumbrando o tratamento da drenagem, torna-se necessário também remover o sulfato presente, como visto nas Eq. 4 e 5, que geralmente, se encontra em quantidades excessivas naquele efluente (AKCIL; KOLDAS, 2006).

### 3.2 TRATAMENTO DA DAM

Diversas alternativas tecnológicas já foram e ainda são testadas para o tratamento da drenagem ácida e a remoção dos metais, de forma a tentar entender as melhores condições bioquímicas e operacionais para tal efeito, em escala plena. Dentre eles, existem os tratamentos biológicos, que envolvem as barreiras reativas e os mais variados tipos de biorreatores sulfetogênicos, em escala piloto e plena, e também, os tratamentos químicos que empregam a adição de cal e aeração para precipitação dos metais dissolvidos (JOHNSON; HALLBERG, 2005).

Gilbert et al. (2002) relatam que barreiras reativas permeáveis compostas por calcário, cascalhos e matrizes de materiais orgânicos, como resto de folhas, madeiras e esgoto doméstico foram instaladas para tratamento de efluentes subterrâneos ácidos e ricos em sulfato. Apesar dos baixos custos de instalação e fácil manutenção, das eficiências consideráveis na remoção de metais e de uma correção de pH adequada, as taxas de consumo de sulfato se mostram pequenas frente aos biorreatores. Além disso, a falta de controle, nas variações sazonais do regime hidráulico dos aquíferos, assim como, nas flutuações das médias de temperatura do local, afeta a eficiência do sistema.

A adição de CaO, seguida de eletrocoagulação, gerando flocos de ferro e alumínio, e, posterior decantação, se mostra eficiente na remoção de sulfatos, metais, e na neutralização de pH de drenagem real oriunda de um lago contaminado (RADIĆ et al., 2003). Os metais podem ser recuperados nessa situação, mas os processos são custosos, haja vista que se gasta com o tratamento e disposição final do lodo gerado e com a aquisição frequente dos materiais coagulantes.

Nesse quesito, os biorreatores se mostram fortes candidatos para tratamento da DAM, porque proporcionam maior controle das condições operacionais adequadas e evitam os custos com gerenciamento do lodo. O processo de redução de sulfato via BRS exige a presença de um doador de elétrons que, na maioria das vezes, atua, também, como fornecedor de carbono para o crescimento e desenvolvimento celular microbiano. Se esse composto, geralmente orgânico, apresentar um custo-benefício maior que aqueles envolvidos nos métodos químicos tradicionais, pode-se dizer que, independente das dificuldades operacionais

existentes na utilização dos biorreatores, o processo biológico é mais viável, em termos econômicos. Sendo assim, é de extrema importância que se experimente fontes de carbono baratas e abundantes ou de fácil acessibilidade no mercado.

Com o intuito de avaliar a viabilidade da utilização de fontes de carbono com baixo custos, Van den Berg et al. (2016) produziram um lodo anaeróbio sintético de esgoto doméstico, e o utilizaram, como fonte de carbono em reatores anaeróbios em batelada de escala laboratorial para verificar a eficiência do processo de tratamento de DAM. Drenagem real foi coletada e utilizada no sistema, com o pH afluente, aos biorreatores, corrigido para 7. As relações DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> estudadas foram de 1,5, 3 e 4. Monitorou-se a eficiência de conversão desses compostos nos biorreatores, inoculados com pequenas quantidades de lodo doméstico coletado de um reator em escala plena. Dentre as razões (doador/receptor) testadas, todas provocaram um comportamento aparentemente igual do sistema, envolvendo eficiências de conversão de DQO e sulfato superiores a 90%. Porém, a de melhor desempenho, foi a relação 3:1. Nessa situação, 86% da DQO e 99% do SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> foram removidos.

Ainda nesse sentido, o potencial de resíduos líquidos de uma vinicultura foi estudado para tratamento de drenagem sintética e comparado com o uso de etanol (COSTA et. al, 2009). Dois reatores anaeróbios de leito fixo com fluxo descendente, utilizando areia grossa como material suporte e resíduos de calcita, foram utilizados para tratar um afluente com 2300 mg.L<sup>-1</sup> de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, 500 mg.L<sup>-1</sup> de ferro, 70 mg.L<sup>-1</sup> de cobre, 150 mg.L<sup>-1</sup> de zinco. Os reatores se mostraram eficientes para remoção de metais e sulfato, durante os 250 dias de operação, para os dois substratos utilizados, e em ambos os casos, relatou-se neutralização do pH efluente. Valores acima de 90%, para remoção de sulfato, cobre, zinco e ferro, foram registrados para as duas situações, sendo o etanol, nesse caso, levemente melhor em termos de eficiência de remoção. A carga máxima de remoção de sulfato, para o reator alimentado com resíduo de vinicultura, foi de 263 mg.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>, correspondendo a uma eficiência de remoção de 91%.

Diferente destas últimas alternativas citadas, de certa forma mais sustentáveis e econômicas, já que são subprodutos de algum processo produtivo, reatores UASB em escala de bancada, usando uma molécula orgânica mais simples porém disponíveis de uma maneira relativamente mais cara no mercado, como etanol, lactato e acetato, também já foram estudados no tratamento de águas residuárias das minerações.

Um reator UASB, de 840 ml, foi operado por 330 dias, recebendo drenagem real, com concentração de 1550 mg.L<sup>-1</sup> de sulfato, e etanol como fonte de carbono (RODRIGUEZ et al., 2012). Quatro fases foram testadas. Nas primeiras duas fases, a drenagem foi diluída com

água de torneira para reduzir a carga de sulfato. Na terceira, uma corrente contendo água de torneira foi alimentada ao reator juntamente com a drenagem, preparando o sistema para um aumento da velocidade ascensional do fluido. E, na quarta, o efluente era recirculado para a corrente de entrada, aumentando, mais uma vez, a velocidade ascensional. A relação  $DQO/SO_4^{2-}$  foi aumentada de 0,67 para 1,0 a partir da segunda fase. Nas três primeiras fases, houve um aumento gradativo das remoções de DQO, indo de 51,4% na primeira para 85,6% na terceira. A conversão de sulfato também aumentou, e foi de 46% até 85%, da primeira para a segunda fase, com o aumento da relação  $DQO/SO_4^{2-}$ , mas com o afluente ainda diluído. Na terceira fase, a remoção de sulfato foi similar ao observado na fase anterior. Na última fase, moléculas tóxicas, como sulfeto de hidrogênio e ácidos orgânicos, adentravam o sistema com continuidade e, possivelmente, foram as principais causadoras do colapso reacional.

O soro de leite, efluente líquido oriundo das indústrias de laticínios, e o soro em pó também podem atuar como doadores de elétrons nos processos anaeróbios, já que ambos são constituídos por moléculas energéticas presentes na forma de proteínas e carboidratos. Além disso, o efluente, geralmente, apresenta uma relação C:N:P adequada para o crescimento microbiano nesses ambientes. Estudos envolvendo reatores em escala laboratorial mostraram resultados importantes na remoção de DQO, de sulfato e de metais quando soro de leite real e sintético foram utilizados para o tratamento da DAM (JIMENEZ-RODRIGUEZ et al., 2009; PEREIRA, 2017; SAMPAIO, 2015).

Jimenez-Rodriguez et al. (2010) operaram três reatores de leito fixo para tratar drenagem ácida de mina utilizando soro de leite, residual de uma indústria de laticínio, como fonte de carbono. A carga aplicada de sulfato e de matéria orgânica foi variada ao longo da operação, mantendo-se as concentrações desses substratos constantes e alterando apenas o tempo de detenção do meio dentro dos reatores. Usando uma relação  $DQO/SO_4^{2-}$  de 0,5, à medida que se aumentou o TDH, registrou-se uma elevação da alcalinidade e do pH, para valores próximos do neutro, seguido de um acréscimo na remoção de sulfato e de uma diminuição na produção de sulfeto de hidrogênio. A diminuição foi ainda maior na produção de metano indicando uma pequena atividade das arqueias metanogênicas nessa situação, e, conseqüentemente, comprovando uma maior predominância das BRS em relações  $DQO/SO_4^{2-}$  bem próximas da relação estequiométrica de 0,67.

Sampaio (2015) operou um reator UASB, em escala de bancada, no tratamento de DAM, usando soro de leite sintético como doador de elétrons. Ao longo de todos os dias de operação, manteve-se constante a relação  $DQO/SO_4^{2-}$ . As concentrações afluentes de DQO e

sulfato variaram entre 500, 1000 e 1500 mg.L<sup>-1</sup>. Após um período de adaptação do lodo, a fase de melhor desempenho acarretou numa eficiência para remoção de sulfato de 74%.

### 3.3 BACTÉRIAS REDUTORAS DE SULFATO

As transformações das diferentes espécies de enxofre se dão sobre forte influência da atividade microbiana. As bactérias redutoras de sulfato, conhecidas como BRS, são umas das responsáveis por garantir o ciclo global do enxofre e do carbono, e são encontradas facilmente na natureza (HANSEN, 1994). Esses microrganismos utilizam como doador de elétrons e fonte de carbono os mais diversos compostos orgânicos, sejam eles misturas complexas ou moléculas simples, como lactato, etanol, acetato, ou propionato, e até mesmo, hidrogênio (LENS et al., 1998; NAGPAL, et al., 2000; ZAGURY; KULNIEKS; NECULITA, 2006). Elas podem ser classificadas com relação à temperatura ótima de atividade: as termófilas, as mesófilas, psicrófilas e também de acordo com sua forma de oxidação: as oxidantes completas e incompletas. As primeiras se caracterizam por oxidar o acetato e por degradar completamente o composto orgânico em dióxido de carbono, enquanto que, as últimas não são capazes de oxidar o acetato, e degradam parcialmente a matéria orgânica existente no meio (TANG, 2008).

Esses microrganismos atuam, a partir de um conjunto de reações específicas, reduzindo o sulfato a sulfeto, fenômeno este que não é termodinamicamente favorável à pressão de 1 atm e temperatura de 20°C. Simultaneamente, nesse processo de oxirredução, as BRS consomem matéria orgânica a fim de se obter energia e moléculas de carbono para o próprio crescimento e atividades metabólicas. Porém, para que todas essas reações, visando remoção de sulfato, aconteçam de maneira adequada ou otimizada, é ideal que esse grupo específico de seres situem-se em ambientes ausentes de oxigênio, com potencial de oxirredução aproximadamente de -200 mV (LENS et al., 1998) .

Quando um consórcio microbiano é alocado em ambientes reduzidos, como os biorreatores para tratamento de resíduos ricos em sulfato, pode-se observar uma competição por substrato entre as BRS e outros organismos importantes para a digestão anaeróbia, como as arqueias metanogênicas hidrogenotróficas e acetoclásticas. O nível de competição entre essas espécies é o fator determinante para se avaliar as eficiências de remoção de sulfato e matéria orgânica, assim como, produção de sulfeto e metano, nos tratamentos biológicos. Por exemplo, adotando relações DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> próximas da estequiometria reacional, aumenta-se a atividade das sulfetogênicas, já que a constante de saturação desses organismos é menor.

Sendo assim, para baixas concentrações de substrato, a velocidade específica de consumo de substrato, por parte das BRS, atinge velocidades maiores quando comparadas com as arqueias metanogênicas, na mesma situação. Por outro lado, à medida que se aumenta a relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, a partir de um valor específico, cria-se um meio propício para o desenvolvimento mais acelerado das metanogênicas, aumentando a produção de metano e de ácidos orgânicos voláteis (MIZUNO; LI; NOIKE, 1994). Acetato e lactato, quando usados como fonte de carbono e de elétrons, possibilitaram a maior velocidade de produção de sulfeto de hidrogênio para relações DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> entre 1,2 e 2,25 (EL BAYOUMY et al., 1999).

### 3.3.1 Atividade em baixo pH

Por muito tempo, acreditou-se que o funcionamento metabólico adequado das BRS acontecia apenas em ambientes com pH variando entre 6 e 8. Porém, estudos mostram que a dinâmica da redução do sulfato, por via biológica, pode acontecer em meios com pH inferior a 5 (KOSCHORRECK, 2007). Nessas regiões de baixo pH é bem provável que se encontre sulfeto de hidrogênio livre, uma maior concentração H<sup>+</sup>, e também, alguns ácidos orgânicos na forma livre. Todos esses compostos podem interferir na funcionalidade adequada do metabolismo da maioria das bactérias, causando inibição da atividade microbiana (SÁNCHEZ-ANDREA et al., 2014).

Um fato interessante que representa a diminuição da atividade microbiana é o bombeamento de prótons a fim de se manter um pH intracelular neutro. Isso acontece porque, em condições de baixo pH, a concentração de H<sup>+</sup> no meio externo é extremamente maior do que a concentração de prótons dentro da membrana celular. Sendo assim, deve existir uma difusão natural desses íons do meio mais concentrado para o menos concentrado de forma a se atingir o equilíbrio osmótico. No entanto, na tentativa de impedir esse evento e de manter o pH interior próximo de 7, as bactérias gastam a maior parte da energia disponível expulsando o excesso de prótons de dentro para fora da célula. Com isso, passa a existir uma dificuldade no desenvolvimento celular, já que apenas um pequeno montante energético é destinado ao crescimento (BIJMANS et al., 2009).

A presença de ácidos orgânicos também pode afetar o metabolismo das BRS, haja vista que esses ácidos atravessam a membrana celular, se dissociam e, por consequência, aumentam a concentração de prótons no meio interno (SÁNCHEZ-ANDREA et al., 2014). Bijmans et al. (2010), operando um biorreator com membrana, evidenciaram uma queda abrupta no rendimento celular das BRS quando o pH afluente passou de 6 para 4. Nessas

situações, a partir de análises biomoleculares, a diversidade da comunidade microbiana geral diminuiu com o passar do tempo, porém, relatou-se um aumento na diversidade das bactérias redutoras de sulfato nesse mesmo período de operação. Com isso, é inferido que existem espécies bacterianas bem específicas e especializadas na vida em baixos pH.

Além do fenômeno de bombeamento de prótons, outros mecanismos para manutenção do pH interno nos microrganismos redutores de sulfato são relatados em Austin e Dopson (2007). Dentre eles, destacam-se a alteração nas propriedades da membrana celular e o tamponamento do citoplasma. É sabido que, em situações estressantes de pH, acontece uma redução do tamanho dos poros e da permeabilidade da membrana, originando uma barreira física responsável por dificultar a penetração dos íons e moléculas tóxicas no interior da célula (AMARO et al., 1991). A adoção de uma diferença de potencial elétrico entre o meio intra e extracelular impede o fluxo de carga de dentro para fora da membrana, garantindo estabilidade do pH interno, e se estabelece, assim, como alternativa de defesa às situações extremas de pH (DOPSON et al., 2002). No citoplasma celular da maioria das bactérias, algumas moléculas orgânicas pequenas, como aminoácidos e os grupos ionizáveis de proteínas, bem como alguns polímeros inorgânicos (polifosfato) atribuem característica tamponante pro meio, porque são capazes de consumir os prótons dispersos ali (LEONE et al., 2007). Apesar de ter-se verificado uma capacidade tamponante levemente maior em microrganismos acidofílicos do que os neutrofilicos, esse mecanismo deve atuar juntamente com outros fatores para ser relevante ao evitar uma possível inibição por pH.

A sensibilidade dos consórcios microbianos, principalmente das BRS e das arqueias metanogênicas, ao sulfeto é variada. Alguns estudos mostram que a fermentação da glicose e do lactato é afetada, primeiramente, seguida da oxidação parcial por parte das BRS e, por fim, da completa oxidação do doador de elétrons, quando existe um predomínio de concentrações elevadas de  $H_2S$ . Acredita-se também que exista um fator estérico de proteção para os consórcios que vivem de forma aglomerada, como os biofilmes e os grânulos, se comparados àqueles com crescimento disperso. Isso porque as camadas mais externas formadas na aglomeração e no crescimento aderido devem criar uma maior resistência à transferência de massa interna dos inibidores, proporcionando o contato com menores concentrações nas camadas mais internas (COLLERAN et al., 1995; VISSER et al., 1996). As mais variadas culturas de BRS já foram encontradas nessas situações e acredita-se que essa diversidade de espécies garante maior robustez ao biofilme, tornando-o mais resistente aos choques ácidos e de metais (KAKSONEN et al., 2004b, 2006).

A presença de BRS ativas em ambientes ácidos também pode acontecer após um período de adaptação, em que se varia gradativamente o pH, atentando-se à resposta do sistema. Reatores UASB em escala laboratorial, alimentados com diferentes doadores de elétrons (lactato, etanol e soro do leite), foram operados para o tratamento de DASM, e seguiram o método de ambientação às condições ácidas. Na condição mais extrema desse trabalho, com pH na corrente de entrada igual a 3,5, foi evidenciado altas remoções de sulfato (ARAÚJO, 2017; PEREIRA, 2017).

Um reator anaeróbio composto por um leito fluidizado seguido de um leito fixo também foi utilizado para o tratamento de drenagem sintética e apresentou resultados satisfatórios para pH afluente de 3,0. Para a fase de carregamento, em que se preparou o reator para receber a DAM real, a taxa de remoção de sulfato, utilizando lactato como fonte de carbono, alcançou valores  $68,6 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ , relacionada a uma eficiência de remoção de 82,3%. Isso mostra, de certa forma, uma alta funcionalidade das BRS nessas condições extremas de pH (BAI et al., 2013).

### 3.4 REATORES DESCONTÍNUOS

O maior entendimento das rotas metabólicas em processos anaeróbios e do comportamento dos microrganismos mediante diferentes condições bioquímicas do meio habitado, conquistado nas últimas décadas, proporcionou o desenvolvimento de diversas tecnologias e configurações de reatores para o tratamento biológico das mais variadas águas residuárias. Destacam-se, nesse segmento, o reator anaeróbio com manta de lodo (UASB), o reator anaeróbio de leito de fixo (RALF), ambos de fluxo contínuo, e o reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais (AnSBR). Este último, caracterizado por apresentar um fluxo descontínuo, e, empregado, geralmente, em processos de geração intermitente de efluentes, apresenta algumas vantagens quando comparado aos reatores contínuos. São elas: boa retenção de sólidos, maior capacidade de controle operacional, maior flexibilidade operacional, simples operação, e baixos custos para tratamento de esgoto doméstico e efluente industrial, tanto de manutenção como de operação.

O AnSBR pode ser definido a partir de uma sequência operacional básica e de simples entendimento. Em primeiro momento, deve-se considerar que o reator opera em ciclos. E existem quatro etapas que definem cada um desses ciclos de operação. Na primeira etapa (i), chamada de alimentação, existe um enchimento do reator com a água residuária a ser tratada. Após o enchimento, têm-se a etapa de reação (ii), em que a agitação do meio causada por

um agitador mecânico ou pela própria recirculação do líquido, promove e intensifica o contato do substrato presente com os microrganismos ali alocados, favorecendo o início e o andamento das transformações bioquímicas que caracterizam o tratamento biológico. Posteriormente, ocorre a etapa de sedimentação (iii), permitindo a decantação das partículas sólidas no fundo do reator, e a consequente clarificação do efluente final. Por fim, têm-se a etapa de esvaziamento (iv), em que se faz a retirada do líquido tratado. Após a última etapa, o ciclo inicia-se novamente e assim, se repete, sucessivamente, por toda a operação do reator (ZAIAT et al., 2001).

Existe um diferente arranjo estrutural dos reatores descontínuos, chamado de Reator Anaeróbio em Batelada Sequencial com Biomassa Imobilizada (AnSBBR), que se destaca frente aos outros tipo de reatores descontínuos. Nos AnSBBR, existe a imobilização da biomassa em um material suporte sólido, permitindo o crescimento desses microrganismos em formato de biofilme. Com isso, ocorre um maior aproveitamento do volume reacional, já que a razão entre concentração de biomassa por unidade de volume do reator se torna alta, possibilitando o sistema atingir elevadas eficiências na remoção de substrato. Além disso, com o crescimento aderido, tem-se uma maior retenção celular nas partículas suporte, não havendo necessidade da etapa de sedimentação, o que contribui para uma possível redução no tempo total de ciclo (RATUSZNEI et al., 2000).

Em ambos os reatores, é necessário realizar a agitação do meio reacional para minimizar os problemas com a transferência de massa dos substratos. Para tal, pode-se fazer a recirculação da fase líquida ou da fase gasosa, ou então, fazer uso de agitadores mecânicos (ZAIAT et al., 2001). Neste último caso, é interessante ressaltar que a intensidade de agitação do meio reacional, que influencia diretamente a taxa de transferência de massa, não depende apenas da rotação do impelidor mecânico, mas também, do formato desses impelidores.

Ao operar um reator AnSBR para tratamento de esgoto doméstico, Novaes et al. (2010b) relataram que as melhores condições de operação eram atingidas com um agitador de turbina tipo pás-planas, enquanto que, o reator AnSBBR operado, apresentou melhor desempenho ao se utilizar um agitador com turbina em formato de hélice. Para as situações em que se utiliza a recirculação de fluido, deve-se avaliar a melhor velocidade de recirculação, aquela que fornece o desprendimento mínimo de biomassa do material suporte, sem limitar a transferência de massa.

Ramos et al. (2003) estudaram a influência da velocidade de recirculação da fase líquida sobre as taxas de transferência de massa num AnSBBR destinado ao tratamento de esgoto com baixa carga orgânica. O sistema apresentou uma alta retenção de sólidos, já que

não se observou o processo de lavagem dos microrganismos, fato registrado por não existir grandes diferenças entre as concentrações de sólidos (totais, fixos e voláteis) na entrada e na saída do reator. Nesse mesmo estudo, fica evidente que a não recirculação da fase líquida causa limitações no transporte das moléculas orgânicas do seio do líquido para o material suporte, já que a eficiência média de remoção foi de 72%, enquanto que, para os testes com a agitação, relatou-se eficiências de remoção superiores a 85%. Relatou-se, também, que o aumento da velocidade de recirculação contribuiu para aumento da constante cinética aparente de consumo de substrato, evidenciando possíveis melhorias no processo de difusão e convecção das moléculas orgânicas para a superfície do material suporte.

Além do grau de mistura, o tempo de alimentação também influencia diretamente o desempenho dos AnSBRs. Quando esse tempo de enchimento é prolongado, na ordem de horas, têm-se a operação em batelada alimentada. Ao aderir essa estratégia de alimentação, torna-se possível tratar águas residuárias com altas cargas orgânicas, mantendo pequenas concentrações de metabólitos intermediários, no meio reacional, e diminuindo, portanto, os possíveis efeitos inibitórios causados pelo acúmulo desses compostos. Pode-se dizer, então, que, nesses casos, existe uma suavização na produção de compostos como os ácidos voláteis, amenizando o “stress” sentido pelos microrganismos quando picos de produção desses compostos estão presentes (ZAIAT, 2001).

O efeito da estratégia de alimentação em um reator AnSBRR, com recirculação da fase líquida, foi estudado no tratamento de água residuárias proveniente de uma indústria produtora de xampu (RODRIGUES et al., 2011). As duas estratégias utilizadas foram a de batelada com tempo de enchimento de 10 minutos e a de batelada alimentada de 4 horas. O tempo de ciclo adotado foi o de 8h para as duas situações. Considerando a carga orgânica inicial de  $1,5 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ , relatou-se uma eficiência de remoção igual a 74% da DQO filtrada, relacionada a uma carga orgânica removida de  $1,13 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ , para a estratégia com batelada alimentada, e uma eficiência correspondente a 60% da DQO filtrada, referente a uma carga removida equivalente a  $0,91 \text{ gDQO.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ , para a estratégia de operação em batelada. Nas outras condições experimentais testadas, variando a concentração e o volume alimentado, também houve uma superioridade de desempenho da estratégia em batelada alimentada, reforçando o fato de que esse tipo de alimentação proporciona maior robustez ao sistema, tornando-o menos vulnerável aos choques orgânicos e garantindo maior rapidez ao se atingir a estabilidade de remoção.

Archilha et al. (2010) utilizaram um reator AnsBBR para tratamento de águas sintéticas ricas em sulfato e avaliaram o desempenho nas remoções de matéria orgânica e

sulfato, modificando as estratégias de alimentação, as relações de  $DQO/SO_4^{2-}$ , e a COA e a CSA. O reator foi operado em batelada e em batelada alimentada de 4h. Nesta última, apenas uma solução constituída por matéria orgânica era alimentada. Para as condições de relação  $DQO/SO_4^{2-}$  equivalente a 1, adotando CSA iguais a  $1,5 \text{ g.l}^{-1}.\text{d}^{-1}$  e  $4,5 \text{ g.l}^{-1}.\text{d}^{-1}$ , a batelada alimentada se mostrou mais eficiente para remoção de  $SO_4^{2-}$ , atingindo valores próximos a 85%. Por outro lado, nessa mesma relação, a operação em batelada conseguiu remover, respectivamente, 68% e 54% do sulfato, para as mesmas CSA empregadas anteriormente. Para uma relação  $DQO/SO_4^{2-}$  correspondente a 3, as eficiências de remoção do sulfato foram praticamente iguais (aproximadamente 98%) para ambas as estratégias de alimentação adotadas. Sendo assim, a técnica de batelada alimentada se mostrou mais influente no quesito consumo de sulfato, quando a relação  $DQO/SO_4^{2-}$  esteve próxima da relação estequiométrica (0,67).

Com o objetivo de verificar os efeitos de diferentes tipos de estratégia de alimentação e diferentes relações  $DQO/SO_4^{2-}$  na remoção de sulfato e DQO, Friedl et al. (2009) operaram um reator AnSBBR com agitação mecânica e biomassa imobilizada em espuma de poliuretano. Batelada com tempo de enchimento de 10 minutos, batelada alimentada de 3h e batelada alimentada de 6h foram as estratégias estudadas. Para cada estratégia também se variou a relação  $DQO/SO_4^{2-}$ , indo sempre de 1,34, para 0,67 e, por fim, para 0,34. Os autores relataram que, nas condições equivalentes ou menores que a razão estequiométrica, o tipo de alimentação pouco afetou a remoção de sulfato, já que os valores de carga removida estiveram sempre bem aproximados. Comportamento diferente daquele visto para a relação  $DQO/SO_4^{2-}$  igual a 1,34 em que a carga removida de sulfato foi de  $0,41 \text{ gSO}_4^{2-}.\text{L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  para a batelada alimentada de 6h, três vezes maior que a carga removida na condição de batelada,  $0,13 \text{ gSO}_4^{2-}.\text{L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ . Ainda nessa relação de substratos, relatou-se um aumento no acúmulo de ácidos voláteis com o aumento do tempo de alimentação, sugerindo uma maior predominância das BRS incompletas sobre as arqueias metanogênicas, que também pode ser evidenciado pelo aumento na produção de sulfetos e uma diminuição significativa na produção de metano à medida que se variou o tempo de enchimento.

Mockaitis et al. (2010) operando um reator AnSBR com biomassa suspensa também relatou que ao se alimentar o reator de maneira gradual, existe um aumento na relação entre a carga removida de sulfato e a carga removida de matéria orgânica, apontando para um melhor aproveitamento das moléculas orgânicas na rota metabólica da sulfetogênese do que na metanogênese. Analisando individualmente cada condição experimental, fica evidente que a

estratégia em batelada alimentada apresentou uma maior capacidade de remover moléculas de sulfato.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 EQUIPAMENTO EXPERIMENTAL

#### 4.1.1 Configuração do reator

O reator apresenta formato cilíndrico, com volume total de 4,1 litros, e foi confeccionado em acrílico. O corpo principal do reator, região onde ficou alocado o material suporte, tem 540 mm de altura, 100 mm de diâmetro externo, e espessura de parede equivalente a 3,5 mm, totalizando um volume de 3,7 litros. O módulo receptor, posicionado abaixo do corpo principal, tem as seguintes dimensões: altura de 20 mm e, diâmetro interno igual a 93 mm. Essa peça foi responsável por transferir e distribuir a DASM das mangueiras de alimentação para o corpo principal. O cabeçote, localizado acima do corpo principal, tem 40 mm de altura e também, 93 mm de diâmetro interno. É nessa estrutura que se deu o direcionamento da DASM para o reservatório de recirculação.

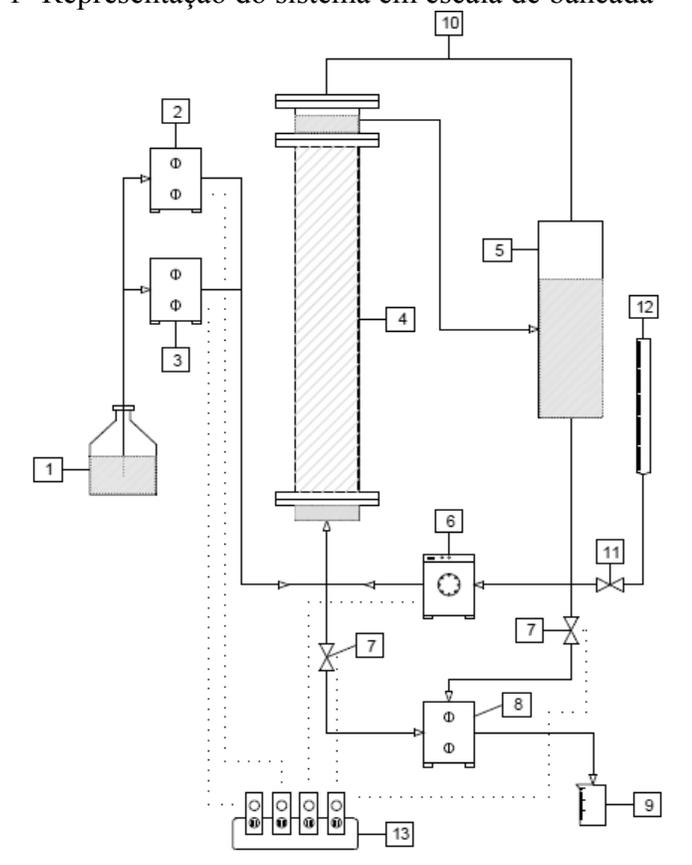
O corpo principal do reator foi preenchido com espuma de poliuretano cortada em cubos com volume unitário de 1 cm<sup>3</sup> (arestas de 1 cm), porosidade igual a 0,95 e densidade de 23 kg.m<sup>-3</sup>, de modo a se obter 1,0 L de volume útil (preenchido pela drenagem durante a operação) dentro do reator.

O tanque de recirculação, posicionado lateralmente ao reator, também é constituído de acrílico, tendo 300 mm de altura, 100 mm de diâmetro externo e espessura de parede equivalente a 3,5 mm, totalizando, assim, um volume de 1,8 litros. Sendo assim, o volume útil total do conjunto reator-reservatório, considerando a espuma e a biomassa já imobilizada, foi de 2,8 litros.

Bombas do tipo diafragma foram responsáveis por alimentar e descarregar o reator, enquanto uma bomba peristáltica atuava na recirculação da fase líquida. Para acionar e desativar todas as bombas, temporizadores foram programados de forma que se permitiu a operação do sistema em ciclos. O reator e o reservatório foram mantidos dentro de uma câmara climatizada, operando a temperatura constante de (30±1)°C. As bombas e os temporizadores ficaram alocados fora da câmara de operação a fim de se evitar o contato com altas concentrações de gases tóxicos produzidos, que diminuem a vida útil desses equipamentos. Optou-se por lacrar o bocal destinado a coleta do biogás porque nos ensaios preliminares relatou-se que, ao manter o headspace aberto, o escoamento do fluido para o reservatório acontecia de maneira turbulenta de modo a provocar a oxigenação do meio,

eliminando, assim, as condições de anaerobiose restrita indispensáveis para o funcionamento adequado da digestão anaeróbia. Com isso, a pressão criada pelo acúmulo dos gases no headspace impediu a oscilação do nível líquido ali existente, contribuindo para um escoamento mais suave, com a drenagem preenchendo todo o volume da mangueira e escorrendo levemente pelas paredes do reservatório. Na Figura 1, têm-se uma esquematização do primeiro arranjo operacional do sistema:

Figura 1- Representação do sistema em escala de bancada

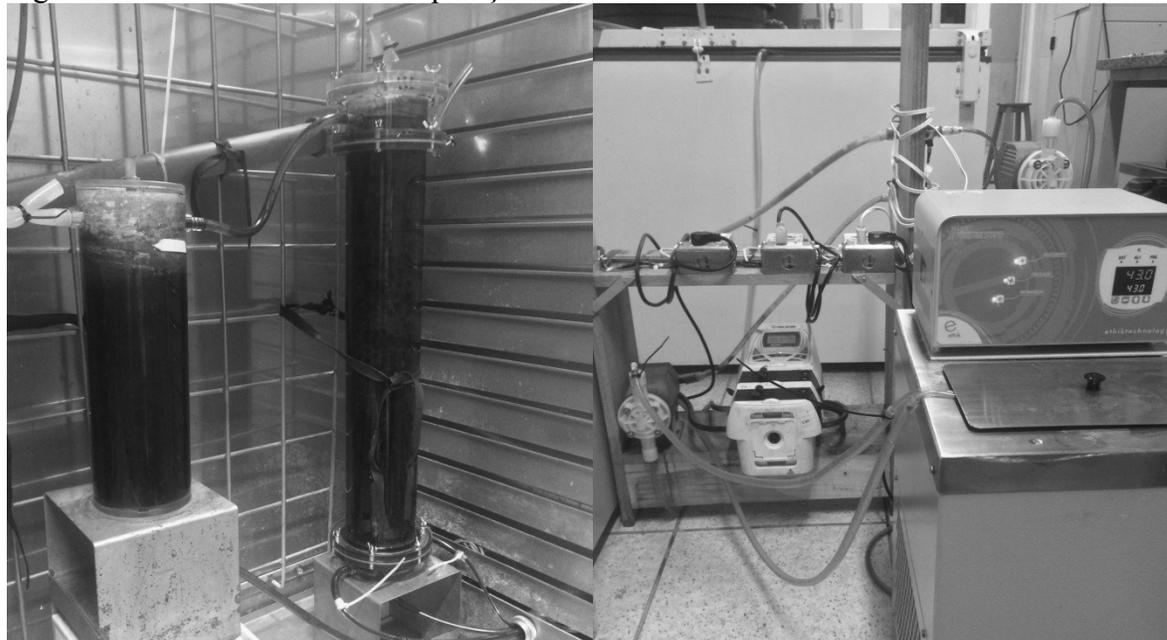


Fonte: Do autor.

Notas: (1) afluente, (2) bomba de alimentação, (3) bomba de alimentação (4) reator com biomassa imobilizada (5) reservatório de recirculação da fase líquida, (6) bomba de recirculação da fase líquida, (7) válvulas de descarga, (8) bomba de descarga, (9) saída de efluente, (10) saída de biogás, (11) válvulas de medição de vazão, (12) tubo graduado para a medida da vazão de recirculação, (13) temporizadores para automação, — linhas hidráulicas, ---- linhas elétricas.

A Figura 2 mostra o sistema já montado no laboratório de biotecnologia:

Figura 2 - Sistema montado em operação

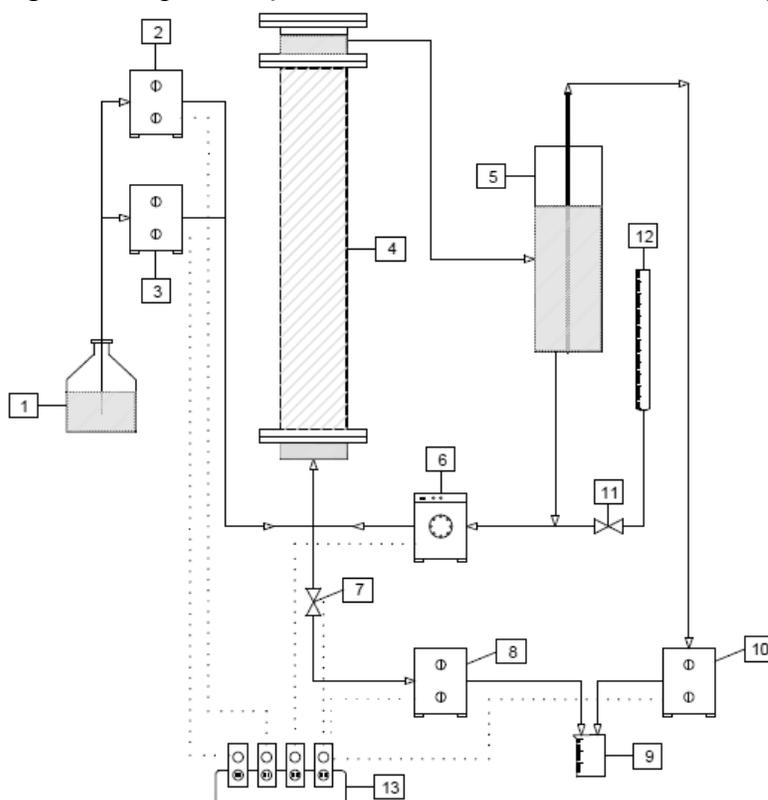


Fonte: Do autor.

Por outro lado, acredita-se que o fechamento do headspace tenha contribuído para o surgimento de uma atmosfera pressurizada na estrutura. A contra pressão criada impedia a liberação do ar que adentrava o sistema no momento do descarte e este permanecia acumulado nas mangueiras de recirculação, dificultando a manutenção da vazão de operação de  $20 \text{ L.h}^{-1}$  ao longo do ciclo. Na primeira tentativa de contornar essa situação, relatada no final da fase I-A, um volume residual equivalente a 200 ml foi mantido no reservatório ao final do ciclo, impossibilitando a entrada de ar nas mangueiras. Testes foram feitos e a vazão de recirculação não apresentou oscilações consideráveis, ficando entre  $19$  e  $21 \text{ L.h}^{-1}$ . Porém, ao iniciar um novo ciclo do AnSBBR com um volume de DASM já tratada presente no sistema, um efeito de diluição surgia contribuindo para a diminuição das cargas de substratos aplicadas. Além disso, como reator e o tanque reservatório apresentavam volumes diferentes, ao deixar um volume de DASM no reservatório, conseqüentemente, um volume residual também permanecia no módulo receptor do reator, incrementando ainda mais a diluição do meio de entrada do ciclo posterior. Durante a condição A, computando o volume residual armazenado no sistema antes do início de cada ciclo, obteve-se a quantidade média de  $(470 \pm 40) \text{ mL}$ , o que implicou sempre numa quantidade de volume alimentado menor que o pré-estabelecido. Como a aplicação de uma menor carga de substrato é incoerente com os

objetivos iniciais do trabalho, o sistema de descarte foi alterado a partir da condição B, Figura 3, na tentativa de amenizar o efeito da diluição inicial, visto também, a dificuldade em controlar o volume descartado do sistema na condição A. Outra bomba de diafragma foi instalada e conectada ao reservatório de modo a descarregar essa estrutura individualmente. Logo, o descarte de cada estrutura, reator e reservatório, foi realizado por bombas diferentes, provocando o funcionamento adequado da bomba peristáltica, destinada à recirculação. Nessa situação, apenas o volume alocado nos interstícios dos poros do leito (estimou-se a quantidade de 150 mL de DASM “velha”) foi responsável por provocar a diluição da DASM inicial.

Figura 3- Representação do sistema em escala de bancada a partir da condição B



Fonte: Do autor.

Notas: (1) afluyente, (2) bomba de alimentação, (3) bomba de alimentação (4) reator com biomassa imobilizada (5) reservatório de recirculação da fase líquida, (6) bomba de recirculação da fase líquida, (7) válvulas de descarga, (8) bomba de descarga do reator, (9) saída de efluente, (10) bomba de descarga do reservatório, (11) válvulas de medição de vazão, (12) tubo graduado para a medida da vazão de recirculação, (13) temporizadores para automação, — linhas hidráulicas, ---- linhas elétricas.

## 4.2 ENSAIO DE MISTURA

Com o objetivo de verificar a distribuição uniforme da concentração no interior do reator, garantindo homogeneidade suficiente para que todo volume constitua parte do meio reacional, fez-se um ensaio de tempo total de mistura. Esse estudo se baseou na técnica estímulo e resposta, em que se perturba o sistema, e conseqüentemente, avalia-se o comportamento da resposta registrada. Nesse caso, o estímulo aplicado foi o do tipo pulso. O sistema foi estudado operando apenas com espuma, e também, com o conjunto espuma e biomassa aderida. Em ambas as situações, monitorou-se a condutividade elétrica da água no headspace do reator, após uma injeção, do tipo pulso, de 2 ml de uma solução de 2,15 M de NaCl. Fazendo uso de uma manipulação matemática, assumiu-se como tempo inicial,  $t=0$ , o momento em que a condutividade natural do meio variou acima de  $2 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ , que é o erro do condutímetro nessa faixa de operação. A partir desse tempo, os dados foram registrados e contabilizados para o ajuste do modelo.

A fim de verificar a normalidade dos resíduos para uma conseqüente série de inferências estatísticas fez-se uso do teste de Shapiro-Wilk, considerando uma significância estatística  $\alpha$  de 5%, e uma análise do comportamento da variância da variável resposta. Caso o teste de hipótese seja positivo para a normalidade, é válido estimar as bandas de confiança para os valores do modelo.

As respostas dos testes e a estatística descritiva foram geradas por rotinas escritas no software R® 3.5.1, demonstrando o potencial e grandeza estatística desse programa, assim como a modelagem da variância, a aplicação do método dos mínimos quadrados ponderados, e os critérios de seleção para modelos não lineares. Para ajustar os dados experimentais aos modelos descritos, e a posterior obtenção dos parâmetros deste, utilizou-se o algoritmo de Levenberg-Marquardt, que foi implementado numa rotina do software R® 3.5.1.

### 4.2.1 Aparato experimental

O reator e reservatório utilizados no ensaio hidrodinâmico são descritos na sessão 4.1. A alimentação e descarga do reator e reservatório foram realizadas com o uso de bombas de diafragma Concept Plus, da marca PROMINENT, possíveis de transportar uma vazão máxima de  $22,9 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ , enquanto a recirculação foi feita com uma bomba peristáltica Miniplus Evolution, da marca Gilson, utilizando dois canais de alta vazão, capaz de bombear uma vazão máxima de  $40 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ . O monitoramento da condutividade se deu pelo uso do

Conductivity Probe, da marca Vernier, capaz de trabalhar em três faixas de condutividade ( $0-200 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ,  $0-2000 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ,  $0-20000 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ), com tempo de resposta de 5 segundos, constante de célula de  $1,0 \text{ cm}^{-1}$ , eletrodos paralelos de grafite, e que permite o registro direto da condutividade ao longo do tempo por meio da interface Logger Lite 1.4, instalado em qualquer computador.

#### 4.2.2 Metodologia do ensaio

O procedimento para o estudo do tempo de mistura foi feito para diferentes vazões de recirculação: 10, 15, 20, 25, 30  $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$ . O sensor foi programado para registrar as leituras de condutividade a cada 15 segundos. Em todos os casos, seguiu-se a mesma sequência operacional, descrita como segue:

a-) preencher todo o corpo principal do reator com água de abastecimento público até um nível estabelecido, e mantido fixo durante toda a experimentação, do headspace e preenchimento do reservatório até atingir o volume de 1,5 l;

b-) posicionar o condutivímetro no headspace e verificar a condutividade da água de torneira até estabilização;

c-) promover a recirculação do líquido até se atingir o nível constante de água no headspace;

d-) injetar rapidamente a solução de NaCl no sítio escolhido, com o auxílio de uma seringa de 5 ml, e iniciar a coleta dos dados no software Logger Lite 1.4;

e-) monitorar a condutividade até se perceber um valor constante na repetição dos resultados;

f-) realizar a lavagem do reator e do reservatório com água de abastecimento público, por aproximadamente 25 min, até se atingir o mesmo valor da condutividade natural dessa água.

Para simular as condições operacionais no tratamento da drenagem sintética, e identificar a condutividade desta, retirou-se uma amostra do meio de entrada de um reator UASB em escala piloto, que trabalha com uma concentração de sulfato de  $2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  e com as mesmas concentrações de metais utilizadas nesse trabalho. A condutividade verificada foi de aproximadamente  $2300 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Como se utilizou concentrações de sulfato equivalentes a quatro terços, metade e um quarto da concentração existente no reator piloto, a condutividade esperada no meio do reator em batelada alimentada seria menor que  $2000 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Porém, se esta concentração de sal fosse injetada no reator, o tempo de enxague seria bem maior daquele

visto na literatura, o que dificultaria, em termos de cronograma do projeto, a execução do teste. E mais, como se pretendia fazer os ensaios hidrodinâmicos bióticos, aquele em que se estuda o tipo de escoamento com a biomassa já aderida ao meio suporte, optou-se por trabalhar numa concentração menor que garantisse até  $200 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  de condutividade, evitando possíveis inibições por soluções altamente salinas. Dois volumes diferentes de solução de sal foram injetados na mesma região do sistema de modo a identificar o efeito da quantidade mássica na estabilização da resposta. Na primeira condição, uma injeção de 2 ml da solução do sal foi feita nas proximidades da tubulação de saída do reator que transporta o líquido para o reservatório, ponto responsável por garantir que um elemento de volume percorra o maior caminho possível até a chegada ao condutivímetro. Posteriormente, na segunda condição, injetou-se o volume de 5 ml da mesma solução de NaCl no local indicado. Lembrando que o experimento foi feito em triplicata.

Em todos os ensaios, o reservatório foi preenchido até se completar 1,8 L, simulando a operação em batelada. Isso porque essa é a condição, dentre todas as outras testadas, que contribui para uma mistura mais demorada. Nas outras estratégias de alimentação, o volume preenchido do reservatório atinge 0,2 L, em primeiro momento. Com menos volume, mais rapidamente se atinge a estabilidade no grau de agitação, e logo, menor será o tempo de mistura. Portanto, testou-se a situação mais desfavorável possível. Por fim, fez-se outro teste, alterando a região de injeção. O sistema foi perturbado logo na entrada da bomba de recirculação, bem próximo do corpo receptor, citado na seção 4.1., com o objetivo de constatar se existe diferença no valor experimental de tempo de mistura. Ressaltando que o ajuste do modelo aos dados experimentais se deu apenas para os dados coletados para a injeção de 2 mL no “t” posicionado após o headspace, já que, não se relatou, experimentalmente, variações discrepantes nos tempos de mistura para as diferentes vertentes do ensaio. Enumeramos as condições de ensaio de 1 a 5, representando as vazões que vão de  $10 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$  até  $30 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ , respectivamente.

### 4.3 ESTUDO HIDRODINÂMICO NO MODO CONTÍNUO

A verificação do comportamento hidrodinâmico do reator preenchido com espuma de poliuretano foi estudada monitorando a condutividade elétrica da água após uma injeção, do tipo pulso, de uma solução de sal, na entrada da estrutura. Mais uma vez, os dados experimentais foram ajustados aos modelos descritos, utilizando o algoritmo de Levenberg-Marquardt, implementado numa rotina do software R® 3.5.1.

Na situação abiótica, o ensaio hidrodinâmico foi realizado para três diferentes vazões de recirculação: 10, 20 e 30 L.h<sup>-1</sup>. Em perturbações do tipo pulso, a solução salina injetada pode causar interpretações equivocadas sobre o que realmente acontece dentro do reator, em termos de regime de fluxo, já que geralmente se observa uma cauda alongada no final das curvas de distribuição E. Esse fenômeno ocorre porque alguns íons da solução ficam alocados nos interstícios do leito de espuma enquanto a maior parte do traçador percorre o leito de maneira ascendente. Depois do pico máximo, a água de abastecimento público escoar ao longo do reator e um gradiente de concentração é criado, liberando gradualmente íons para o seio do líquido por meio de um processo natural de difusão. A taxa de caída da curva contabiliza esse incremento de íons e se torna menor se comparada com o cenário em que a interação entre traçador e material suporte não existe. Por isso, para representar a situação ideal, o pico crescente dos ensaios foi espelhado e os modelos tradicionais foram aplicados para inferir os parâmetros hidrodinâmicos. Esses parâmetros foram comparados com os parâmetros dos mesmos modelos aplicados aos dados brutos, que apresentam o alongamento anômalo. Além disso, fez-se uso do tempo de detenção hidráulico médio obtido pela aderência dos modelos ao comportamento de pulso rebatido com o objetivo de determinar o volume útil do reator e comparar esta quantidade com o volume do reator encontrado pelos ensaios de tempo de mistura.

Sabendo da possibilidade de metanogênese ao longo da operação do AnSBBR, ensaios hidrodinâmicos bióticos foram realizados, após finalizar todas as fases de tratamento da DASM, a fim de verificar a influência dos gases da digestão anaeróbia no regime de fluxo no leito do reator. Apenas a vazão de 10 L.h<sup>-1</sup> foi testada, já que dentre as vazões testadas anteriormente essa é a menor delas, vinculando-se a um maior tempo de detenção hidráulico, e, teoricamente, a uma possível maior produção de gases. Nesse caso, na tentativa de amenizar as anomalias causadas pela difusão do traçador no ensaio do tipo pulso, a perturbação do tipo degrau foi adotada. DASM com as características da condição C foi preparada e misturada com uma concentração salina de forma que a condutividade da mistura aumentasse em 1800  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Após a coleta dos dados em triplicata, o ensaio foi repetido utilizando apenas uma mistura de água de torneira e solução salina, mantendo a condutividade em torno dos mesmos 1800  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Dessa forma, após as devidas manipulações da curva F para o ensaio biótico com DASM e com água, a curva E<sub>0</sub> foi obtida nessas duas situações e os modelos de N-CSTR e de Grande dispersão de Levenspiel ajustados para obtenção e comparação das estimativas dos parâmetros.

Além disso, como também houve indícios de colmatação do leito preenchido com espuma e biomassa, testes apenas com água de torneira foram efetuados com o propósito de identificar possíveis anomalias hidrodinâmicas, como curto-circuito, caminhos preferenciais e zonas estagnadas, que podem prejudicar o desempenho do AnSBBR no tratamento de DASM. As vazões estudadas aqui foram de  $10 \text{ L.h}^{-1}$  e  $20 \text{ L.h}^{-1}$  e a perturbação do tipo degrau e do tipo pulso foram adotadas para efeito de comparação. Se o tempo de pico experimental estiver próximo do tempo de pico teórico obtido pela integração da curva E, é bem provável que não existam anomalias de escoamento oriundas da compactação do leito (LEVENSPIEL, 2000).

#### **4.3.1 Aparato experimental**

As ferramentas utilizadas na sessão 4.2.2. foram reutilizadas nessa nova etapa experimental.

#### **4.3.2 Metodologia do ensaio**

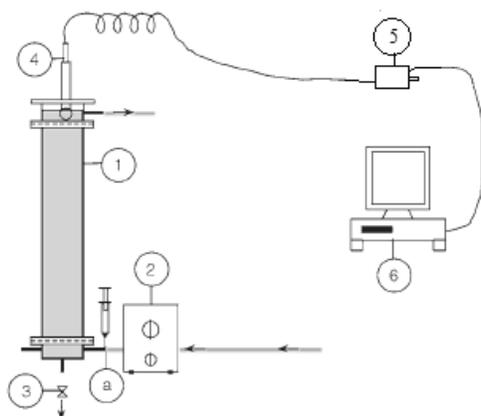
O comportamento hidrodinâmico foi estudado para três vazões diferentes: 10, 20 e 30  $\text{L.h}^{-1}$ . Programou-se o sensor para efetuar leituras de condutividade a cada 15 segundos. Em todos os casos, seguiu-se a mesma sequência operacional, descrita como segue:

- a) alimentar continuamente o reator com água de abastecimento público até um nível estabelecido, e mantido fixo durante toda a experimentação, na cabeça do reator;
- b-) posicionar o condutímetro no headspace e verificar a condutividade da água de torneira até estabilização;
- c-) injetar rapidamente 1 ml da solução de NaCl no sítio escolhido, com o auxílio de uma seringa de 5 ml, e iniciar a coleta dos dados no software Logger Lite 1.4;
- d-) monitorar a condutividade até se perceber um valor constante na repetição dos resultados e equivalente ou bem próximo da condutividade inicial da água de abastecimento público;
- e-) esvaziar o reator utilizando a bomba de descarregamento.

Optou-se por trabalhar na menor faixa de operação da sonda, de  $0\text{-}200 \mu\text{S.cm}^{-1}$  pelo fato das curvas DTR de reatores tubulares preenchidos com material suporte poroso apresentarem, geralmente, uma cauda alongada, intrínseco à sistemas em que se percebe algum tipo de anomalia hidráulica, fator prejudicial na interpretação do comportamento do escoamento. Dessa forma, quanto maior for a concentração do traçador, maior deve ser o

tamanho da cauda, e maior o efeito dessa anomalia sobre o ajuste dos modelos. Então, mais uma vez, decidiu-se trabalhar com uma pequena concentração salina.

Figura 4 - Esquema utilizado na determinação das curvas de distribuição do tempo de residência



Fonte: Adaptado de Camargo et al. (2010).

Notas: 1: reator de leito preenchido com espuma de poliuretano, 2: bomba de recirculação, 3: bomba de descarga, 4: sonda do condutivímetro, 5: condutivímetro, 6: microcomputador, ---: linhas elétricas, — linhas hidráulicas, a: região de perturbação.

## 4.4 OPERAÇÃO DO REATOR NO TRATAMENTO DA DASM

### 4.4.1 Equipamento

O equipamento experimental utilizado nos ensaios de operação do reator AnSBBR foi o mesmo descrito no item 4.1.

### 4.4.2 Operação do reator

O reator foi operado em ciclos de 8 horas, totalizando três ciclos diários. Em primeiro momento, o reator teve configuração do tipo batelada, com tempo de alimentação e de descarga equivalente a 10 min cada, sendo que os 460 min restantes foram destinados à recirculação da DASM no reator, em circuito fechado. Nas etapas posteriores do experimento, o reator foi operado seguindo as características de um reator de batelada alimentada. Os tempos de alimentação, em batelada, e de descarga foram iguais aos da primeira etapa, variando, apenas, os tempos de alimentação em batelada alimentada. Sendo assim, durante os

outros 460 min, todo o restante da DASM foi lançada no sistema reacional em diferentes tempos, de acordo com a estratégia de alimentação adotada. Lembrando que em todas as situações, foi alimentado um volume equivalente a 1,1 litros, sempre em batelada e durante os 10 primeiros minutos de cada ciclo, a fim de se acumular um volume de segurança de 0,1 litros no reservatório, impedindo que a bomba de recirculação opere desafogada. A relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> inicial teórica de 2 foi adotada durante todo o procedimento experimental e soro de leite em pó reconstituído será utilizado como fonte de carbono. Três condições operacionais serão estabelecidas, como visto na Tabela 1, variando a concentração de sulfato no meio afluente. Para cada carga de sulfato aplicada, todas as estratégias de alimentação serão testadas.

Tabela 1 - Variação de sulfato para cada condição

Condição	C <sub>SO<sub>4</sub><sup>2-</sup></sub> (mg.L <sup>-1</sup> )
A	500
B	1000
C	1500

Fonte: Do autor.

Tabela 2 - Estratégias de alimentação que serão adotadas

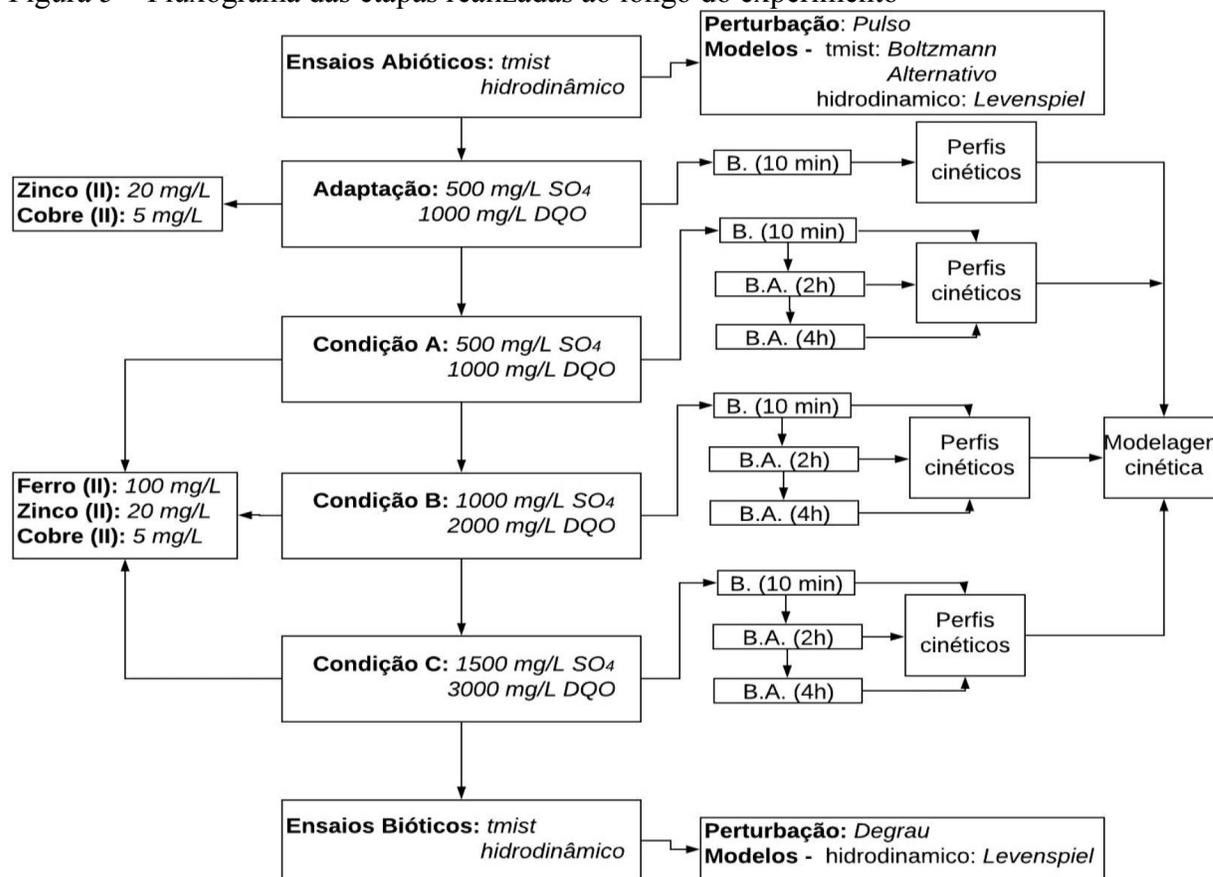
Estratégia	Período de alimentação e reação (min)	Período de reação (min)	Período de descarga (min)
I Batelada	0 -10	11-470	471-480
II Batelada seguida de batelada alimentada	0-120	121-470	471-480
III Batelada seguida de batelada alimentada	0-240	241-470	471-480

Fonte: Do autor.

Sendo assim, foram avaliadas 9 etapas de operação e também, a fase de Adaptação. Cada etapa corresponde a um conjunto formado por um tipo de condição e pela estratégia de alimentação utilizada naquele momento. Por exemplo, a etapa I-A indica a operação do reator em batelada com uma concentração de sulfato inicial igual a 500 mg.L<sup>-1</sup>. E a etapa III-C indica a operação do reator em batelada alimentada (4h) com concentração de sulfato de 1500 mg.L<sup>-1</sup>. As etapas foram implementadas em ordem crescente com relação ao tempo de

alimentação, mantendo constante a concentração dos substratos. Portanto, logo após a etapa inicial, I-A, a estratégia de alimentação e condição utilizada foi a II-A, e, por sequencia, a fase III-A. Ao terminar a condição A, os mesmos passos foram aplicados à condição B e, posteriormente, C. Lembrando que a troca de etapas aconteceu quando o reator demonstrou sinais de estabilização aparente no consumo de sulfato e matéria orgânica. Após a aplicação de todas essas etapas, a concentração de entrada do reator foi aumentada para a condição B, seguindo todas as estratégias de alimentação, como feito anteriormente, e por fim, para a condição C, também adotando as mesmas regras de alimentação. A Figura 5 mostra um fluxograma da sequência das etapas experimentais realizadas:

Figura 5 – Fluxograma das etapas realizadas ao longo do experimento



Fonte: Do autor.

O monitoramento do reator foi feito quantificando as concentrações de matéria orgânica (DQO), de alcalinidade e acidez, dos ácidos voláteis totais, do Ferro, do sulfato, do sulfeto, e também, do pH, conforme EATON et al. (2005). As análises foram efetuadas com uma frequência de duas a três vezes por semana, com exceção das análises de metais, realizada a cada 15 dias.

#### 4.4.3 Água residuária – Drenagem Ácida Sintética de Mina

Até a condição A, em que a concentração de DQO era equivalente a  $1000 \text{ mg.L}^{-1}$ , o preparo da drenagem ácida de mina sintética foi feito a cada 5 dias, totalizando 50 litros por cada dia de produção. Porém, se relatou uma diminuição da DQO solúvel, causada pela coagulação e precipitação das proteínas do soro em baixo pH, e, então, a partir daí, como as concentrações de DQO se elevaram para 2000 e  $3000 \text{ mg.L}^{-1}$  nas fases B e C, respectivamente, juntamente com as concentrações de sulfato, começou a se preparar 30 litros de DASM, que abasteciam o sistema em três dias de operação. Logo, esse encurtamento no tempo de preparo do meio se deu justamente para evitar maiores instabilidades nos valores de DQO de entrada, já que, com uma maior força iônica do meio oriundo da adição de uma maior quantidade de sais de sulfato, o fenômeno de precipitação das proteínas do soro de leite no fundo do galão ocorreria de maneira mais significativa, diminuindo, ao longo dos 5 dias, mais drasticamente a DQO solúvel disponível. Sendo assim, para as condições B e C, datando três dias da data de confecção, verificou-se uma DQO afluente 10% menor que o valor inicial, uma queda considerável pra manter estável a relação  $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$  inicial de 2,0.

Com relação aos metais, os sais de zinco e cobre eram adicionados juntamente com o soro de leite em pó e o sulfato de sódio, a um béquer de 1 litro, submetidos a agitação constante até diluição completa. A solução era transferida para um galão de 50 litros, contendo uma quantidade de água de abastecimento público previamente adicionada que variou de acordo com o volume desejado de DASM. Posteriormente, em todos os volumes confeccionados, ocorria a adição de ácido clorídrico P.A, para que o pH do meio atingisse valor ligeiramente menor que 3,0. Isso permitiu a adição do sulfato ferroso extinguindo qualquer possibilidade desse íon ser convertido para formas insolúveis, como o íon férrico e as espécies hidrolisadas, e assim, evitar qualquer fenômeno físico-químico de remoção do ferro antes de adentrar o reator. O meio era, então, agitado manualmente para se atingir total homegeinização e esperava-se alguns minutos para coleta de uma amostra e leitura no pHmetro. Após verificação do pH de trabalho, que variou de 2,9 a 3,35, completava-se o galão com água de abastecimento público até atingir o volume desejado. A massa dos constituintes pesada, para a produção de DASM, está mostrada na Tabela 3.

Tabela 3 - Massa pesada para fabricação da DASM (10 L)

Constituinte (g)	Condição		
	A	B	C
Soro	9,78	19,57	29,35
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	4,3	11,7	19,09
CuSO <sub>4</sub>	0,2	0,2	0,2
ZnSO <sub>4</sub>	0,88	0,88	0,88
FeSO <sub>4</sub>	4,98	4,98	4,98

Fonte: Do autor.

#### 4.4.4 Inóculo

A biomassa para a inoculação foi retirada do leite de um reator UASB utilizado para o tratamento de DASM em pH ácido (entre 3 e 4,5) estudado por Acerbi (2015).

#### 4.4.5 Análises físico-químicas

As análises foram realizadas seguindo os métodos descritos pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (EATON et al., 2005), exceto quando explicitado:

- Matéria orgânica (DQO) para as amostras filtradas e não filtradas – método 5220 D (colorimétrico – refluxo fechado).
- pH – método 4500-H<sup>+</sup> B (eletrométrico).
- Potencial de oxirredução – valores de potencial de oxirredução (POR) foram determinados através de eletrodos específicos.
- Alcalinidade e ácidos voláteis totais – medidas de alcalinidade total, parcial, intermediária e a bicarbonato (AT, AP, AI e AB), bem como de ácidos voláteis totais (AVT), foram realizadas segundo método titulométrico desenvolvido por Dilallo e Albertson (1961) e modificado por Ripley et al. (1986).
- Ácidos voláteis intermediários (acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico, valérico e capróico) – foi empregado o cromatógrafo a gás, equipado para análise de *headspace*, com injetor automático e detector de ionização de chama operado a 300°C. A coluna utilizada é do tipo empacotada, com as seguintes características: comprimento: 30 m; diâmetro interno: 0,25 mm; espessura do filme: 0,25 µm; “phase ratio”: 250. A temperatura do injetor será mantida em 250°C. O forno será inicialmente mantido a 100°C por 3 min, após o

que será aquecido a uma taxa de  $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  até  $180^{\circ}\text{C}$  e mantido nesta temperatura por 5 min.  $\text{H}_2$  ( $30\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ),  $\text{N}_2$  ( $33\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ) e ar sintético ( $300\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ) serão usados como gás de arraste/"flame", gás de "make-up" e gás de "flame", respectivamente. A razão "split/splitness" utilizada será 1:20 (MORAES et al., 2000).

- f) Sólidos totais e suspensos totais, voláteis e não voláteis (ST, SST, SVT, SSV) – métodos 2540 B (sólidos totais secados a  $103\text{-}105^{\circ}\text{C}$ ), 2540 D (sólidos suspensos totais secados a  $103\text{-}105^{\circ}\text{C}$ ) e 2540 E (sólidos fixos e voláteis a  $550^{\circ}\text{C}$ ).
- g) Sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) – método 4500- $\text{SO}_4^{2-}$  E (turbidimétrico).
- h) Sulfeto total dissolvido ( $\text{S}^{2-}$ ) – método 4500- $\text{S}^{2-}$  D (azul de metileno).
- i) Ferro total dissolvido e  $\text{Fe}^{2+}$  - método da fenetrolina (colorimétrico).

#### 4.4.6 Imobilização da biomassa

A imobilização do lodo foi feita utilizando metodologia descrita em Zaiat et al. (1994). Seguindo tal método, todas as espumas cortadas em cubos foram despejadas numa bandeja, juntamente com o lodo retirado do reator operado com etanol por Acerbi, (2015). Ressaltando que esse lodo foi peneirado com auxílio de uma peneira com abertura de aproximadamente 1 milímetro. Toda a parcela líquida proveniente do lodo foi coletada e guardada em freezer com temperatura operacional de  $10^{\circ}\text{C}$ . Após a mistura de lodo e espuma, o conjunto foi adicionado ao reator, preenchendo os quatro módulos existentes. Nesse momento, atentou-se para evitar a compactação do leito, fenômeno que pode acarretar problemas operacionais. Por isso, as espumas contendo biomassa foram distribuídas suavemente. Posteriormente, com o sistema já preparado para partida, adicionou-se manualmente o lodo líquido excedente coletado, e acionou-se a recirculação com vazão de  $5\text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ , na tentativa de promover uma maior adesão da biomassa ao material suporte durante um dia.

### 4.3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 4.3.1 Tempo de mistura

Para reatores de escala laboratorial com recirculação da fase líquida, compostos por pequenos volumes reacionais quando comparados ao de escala real, conseqüentemente,

detentores de pequenas capacidades de diluição, é comum perceber um comportamento oscilatório da resposta um pouco antes de se atingir o tempo de mistura total, como relatado em Camargo et al. (2005). É bastante frequente também, nesse caso, ajustar algum tipo de sigmoide, seja de Boltzmann ou de Gompertz, e modelos de primeira ordem, que seguem uma distribuição exponencial, para prever teoricamente o tempo total para mistura. Acontece que, pode existir uma discrepância relevante entre o valor de tempo de mistura estimado experimentalmente e o tempo encontrado pelo ajuste. Como exemplo, erros relativos entre o tempo teórico e o tempo experimental da ordem de 43% já foram relatados. Isso porque estas distribuições atingem um platô, ou nível máximo da resposta, antes de alcançar a real estabilidade. Ou seja, a consideração de que o tempo de mistura se dá quando a resposta atinge 99,9% da resposta máxima, é pouco eficiente, já que nesse momento do ensaio, ainda não se obteve a mistura completa do sistema.

Como tentativa de melhora nessa aproximação, um modelo de resposta de segunda ordem subamortecido para perturbação do tipo degrau, utilizado em sistemas de controle, foi testado. Deixando claro que, o sistema reacional é perturbado, rapidamente, com a injeção da solução do sal, caracterizada pelo tipo pulso, e que o condutivímetro responde de acordo com a perturbação do tipo degrau, já que o equipamento é estimulado por uma mudança contínua na condutividade. O modelo no domínio temporal, que apresenta uma combinação da função seno e exponencial, representa um comportamento de oscilação após uma perturbação inicial, sendo descrito por:

$$y(t) = k \left[ 1 - \frac{1}{\beta} e^{(-\xi\omega_n t)} \text{sen}(\beta\omega_n t + \phi) \right] \quad (6)$$

em que:  $y(t)$  é a resposta em função do tempo,  $k$  é o ganho do processo,  $\omega_n$  é a frequência natural de oscilação,  $\xi$  é a taxa de amortecimento,  $\beta$  é uma constante equivalente a  $\sqrt{(1 - \xi^2)}$  e  $\phi$ , outra constante, igual a  $\text{arctg} \left( \frac{\beta}{\xi} \right)$ .

Em controle de processos, o tempo de assentamento é definido como o tempo necessário para a resposta atingir um valor bem próximo do estado estacionário. Essa proximidade, em termos matemáticos, significa, geralmente, atingir uma faixa de  $\pm 1\%$  em torno do valor final. Seguindo essa definição, a amplitude da senoide presente na Eq. 6, deve ser:

$$\frac{1}{\beta} e^{(-\xi\omega_n t_s)} = 0,01 \quad (7)$$

Fazendo a analogia de que o tempo de assentamento  $t_S$  corresponde ao tempo de mistura  $t_M$  propriamente dito, e isolando o tempo na Eq. 7, temos:

$$t_M = \frac{\ln(0.01\beta)}{\xi\omega_n} \quad (8)$$

Utilizando o critério da faixa de 1%, a Eq. 8 se resume a:

$$t_M = \frac{4,6}{\xi\omega_n} \quad (9)$$

Por fim, para definir o tempo total de mistura  $t_{mist}$ , soma-se o tempo necessário para a verificação do primeiro estímulo, definido como tempo de atraso  $t_0$  ao tempo de mistura obtido a partir do ajuste:

$$t_{mist} = t_0 + t_M \quad (10)$$

A determinação do volume útil de reatores computando o volume descarregado no fim do ciclo pode gerar medidas equivocadas quando o leito da estrutura é preenchido com espuma de poliuretano porque certa quantidade de água ainda permanece estagnada dentro dos poros do material suporte originando um erro de medida difícil de prever. Nesse sentido, os ensaios de tempo de mistura podem ser importantes na estimativa do volume de reator e reservatório. Dois métodos foram aplicados no mesmo conjunto de dados para obter essas quantidades. Primeiro, considerou-se a equação da diluição que preserva a massa dentro do sistema. Pode-se considerar que a massa de sal adicionada pela injeção do tipo pulso é a mesma massa que se distribui por todo o sistema quando se atinge o tempo de mistura:

$$m_{pulso} = C_{mist,t} \cdot V_{mist,t} - C_A \cdot V_{mist,t} \quad (11)$$

Como o maior valor de condutividade permanece em torno de  $180 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  durante os ensaios abióticos, é importante considerar a condutividade da água de torneira que era de aproximadamente  $50 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  (28% do valor máximo). Portanto, a Eq. 22 recebe o segundo termo do lado direito em que  $C_A$  é a condutividade natural da água.  $C_{mist,t}$  e  $V_{mist,t}$  são, respectivamente, a concentração eletrólita teórica, calculada pela Eq.6, e o volume necessário para alcançar a mistura total. Além dessas considerações, pode-se dizer que o volume de mistura não é o volume de trabalho necessariamente. Quando mais de uma circulação é necessária pra atingir a homogeneidade, está última afirmação é válida. Uma alternativa para calcular o número de “troca de volumes” do sistema é dividindo o tempo de mistura pelo tempo de pico. Esta última variável representa o momento em que a maior parte dos eletrólitos injetados inicialmente cruzam totalmente reservatório e reator. Isso acontece

porque o fluxo da recirculação garante que a distância entre a região onde a solução salina adentra o sistema e a sonda do condutivímetro é a mais longa possível. Portanto:

$$n = \frac{t_{\text{mist,t}}}{t_{\text{pico,t}}} \quad (12)$$

Ressaltando que  $n$  é o número de circulações,  $t_{\text{mist,t}}$  é o tempo de mistura teórico e  $t_{\text{pico,t}}$  é o tempo de pico teórico. Portanto, o volume útil pode ser dado por:

$$V_u = \frac{V_{\text{mist}}}{n} \quad (13)$$

Outra técnica que pode ser usada nesse sentido é baseada apenas em critérios experimentais, desconsiderando o uso de um modelo. Ela considera apenas o tempo de pico e a vazão de recirculação, oriundas dos dados de condutividade coletados e das medidas de vazão, respectivamente. Definindo o tempo de pico como o tempo de detenção hidráulica  $\Theta_h$  para uma circulação, a famosa equação pode ser usada:

$$V_u = \theta_h \cdot Q \quad (14)$$

O teste t pareado foi aplicado para verificar os resultados obtidos por esses dois métodos.

#### 4.3.2 Ensaio hidrodinâmico no modo contínuo

É sabido que o comportamento hidrodinâmico do fluxo no interior de uma estrutura que comporta reações químicas influencia diretamente na eficiência de conversão dos reagentes em produtos. Na prática, a hidrodinâmica dos reatores se aproxima do fluxo pistonado ou da mistura completa, sendo raros os casos de idealidade. Daí se dá a importância do estudo hidrodinâmico que, além de determinar a proximidade com os fluxos ideais, torna possível registrar anomalias bem frequentes, como curto-circuitos, zonas mortas, caminhos preferenciais ou, até mesmo, adsorção de moléculas traçadoras em materiais suportes (LEVENSPIEL, 2000).

Modelos sólidos estatisticamente tratam de fornecer uma real caracterização do comportamento hidráulico (LEVENSPIEL, 2000). Nesse caso, é preciso perturbar rapidamente o sistema estudado, e monitorar a variação da concentração do traçador em função do tempo, processo chamado de distribuição do tempo de residência,  $E$ , do inglês, exit. A partir dessa função, é possível definir o tempo de permanência de diferentes elementos de volume, já que cada um deles navega pelo reator seguindo linhas de fluxos diferentes,

contribuindo, no final, para a estimativa de um tempo de detenção hidráulico médio. Sendo assim, na perturbação do tipo pulso, a fração de partículas que permanecem no reator durante um intervalo de tempo que varia de  $t$  até  $t+\Delta t$  é descrita pela função  $E(t)$ , normalizada e com unidade de  $s^{-1}$ , determinada por:

$$E(t) = \frac{c(t)}{\sum c(t)\Delta t} \quad (15)$$

A partir dessa discretização, o tempo de residência médio é dado por:

$$\bar{t} = \sum tE(t)\Delta t \quad (16)$$

O desvio entre o tempo de permanência de cada elemento de volume que viaja pelo reator e o tempo de detenção médio  $\bar{t}$  é encontrado em termos da variância:

$$\sigma^2 = \sum (t - \bar{t})^2 E(t)\Delta t \quad (17)$$

A transformação da função  $E(t)$  para a função  $E(\Theta)$ , adimensional, é um método facilitador na comparação de reatores com capacidades diferentes. A variável  $\Theta$  pode ser definida como a razão entre o tempo  $t$  e o tempo de residência média  $\bar{t}$ , enquanto  $E(\Theta)$  é definida como a multiplicação de  $E(t)$  por  $\bar{t}$ .

Três modelos não lineares com apenas um parâmetro ajustável foram levados em consideração para caracterizar o formato da curva  $E(\Theta)$ . Os clássicos modelos de dispersão (pequena e grande) mostram a intensidade da variação longitudinal das linhas de fluxo no escoamento, enquanto o modelo de N-CSTRs transforma o reator, virtualmente, em um conjunto finito de reatores ideais, de mistura completa, posicionados em série. Os parâmetros ajustáveis nesses modelos são: o número de dispersão ( $D/uL$ ) para os modelos de dispersão e o número de CSTRs ( $N$ ) para o modelo de CSTRs em série, vistos na Tabela 4 (LEVENSPIEL, 2000).

Tabela 4 - Modelos utilizados para o ajuste hidrodinâmico

Modelo	Equação
N-CSTR	$E_{\theta} = \frac{N(N\theta)^{N-1}}{(N-1)!} e^{-N\theta}$
Pequena dispersão	$E_{\theta} = \frac{1}{\sqrt{4\pi(D/uL)}} e^{\left[-\frac{(1-\theta)^2}{4(D/uL)}\right]}$
Grande dispersão	$E_{\theta} = \frac{1}{\sqrt{4\pi(D/uL)}} e^{\left[-\frac{(1-\theta)^2}{4\theta(D/uL)}\right]}$

Fonte: Do autor.

Ressaltando que quando  $N$  tende ao infinito, o comportamento se aproxima ao de um reator de fluxo pistonado ideal. Porém, quando  $N$  tende à unidade, o escoamento é caracterizado como próximo do mistura completa ideal. Da mesma maneira, nas situações em que a dispersão longitudinal é praticamente nula, o número de dispersão tende à zero, capacitando a modelagem do sistema como um reator pistonado. Por outro lado, o fluxo pode ser considerado de mistura completa quando  $D/uL$  tende ao infinito (LEVENSPIEL, 2000). Estes testes só são aplicados após a utilização de uma ferramenta chamada regressão, responsável por ajustar um modelo teórico à um conjunto de dados experimentais.

### 4.3.3 Regressão não linear

O modelo teórico apresenta parâmetros que, na maioria das vezes, apresentam significado físico e fornecem informações valiosas sobre o fenômeno em estudo. Dessa forma, pode-se dizer que a regressão é capaz de encontrar estimativas para os parâmetros do modelo e verificar se este realmente representa bem o experimento realizado. As técnicas mais utilizadas em regressão são o Método dos Mínimos Quadrados Ordinários e o Método da Máxima Verossimilhança. Nesse trabalho, faremos uso apenas do primeiro e, por isso, somente ele será citado aqui. Considerando um modelo que descreve o comportamento da variável resposta  $y$  em função da variável independente  $x$ , tem-se:

$$y = f(x, \theta) \quad (18)$$

O MQO se caracteriza por selecionar um valor específico para os parâmetros de forma a minimizar o somatório dos resíduos ao quadrado. Logo, como função objetivo e passível de minimização, tem-se a diferença entre o valor experimental da variável resposta e o valor previsto pelo modelo para a respectiva variável independente:

$$SQR(\theta) = \sum_{i=1}^n [y_i - f(x_i, \theta)]^2 \quad (19)$$

Porém, quando as premissas da regressão ordinária (homogeneidade na distribuição das variâncias, distribuição normal dos resíduos e não interdependência dos resíduos) são violadas, o método dos mínimos quadrados ordinários se mostra pouco eficaz na reprodução dos erros das estimativas. Nesse sentido, uma alternativa ao método em questão é a aplicação do método dos mínimos quadrados ponderados, que, basicamente, pondera os resíduos do modelo por algum fator preestabelecido, tentando corrigir o desvio entre o comportamento experimental dos dados e o modelo adotado. Esses fatores podem ser, por exemplo, o inverso da resposta, a variância da própria resposta e a variável dependente. Logo, diferentemente do

ordinário, no MQP a função objetivo a ser minimizada é a somatória dos resíduos ao quadrado acompanhada do fator ponderante  $w_i$ :

$$SQR(\theta) = \sum_{i=1}^n w_i \cdot [y_i - f(x_i, \theta)]^2 \quad (20)$$

Partindo dos mínimos quadrados, a matriz das estimativas dos parâmetros é sempre escrita como:

$$\hat{\theta} = (X^T \cdot X)^{-1} \cdot X^T \cdot y \quad (21)$$

em que  $X$  é a matriz com a derivada de primeira ordem do modelo com relação aos parâmetros, e  $\hat{\theta}$  é a matriz contendo as estimativas do parâmetros.

Em modelos lineares, as derivadas primeiras dos parâmetros serão sempre dependentes dos valores da variável independente  $X$ . Além disso, atentando-se à Eq. 17, fica evidente também que a estimativa dos parâmetros depende dos valores da variável resposta, tornando o termo direito da igualdade conhecido. Dessa forma, pode-se dizer que para a regressão linear, a matriz  $\hat{\theta}$  tem solução analítica.

Por outro lado, no caso de não linearidade, a matriz gradiente  $X$  é dependente de algum parâmetro ainda não estimado, e, portanto, o termo direito da Eq. 17 não é totalmente conhecido, fazendo necessária a aplicação de um método numérico para resolução dessa igualdade. Métodos como o de Levenberg-Marquardt e de Gauss-Newton são, geralmente, os mais usados nessa situação. Essas técnicas partem de um “chute inicial” para o valor dos parâmetros e se baseiam numa sucessão de iterações até alcançar a convergência desses valores, momento em que a estimativa de  $\hat{\theta}_{i+1}$  se aproxima muito da estimativa  $\hat{\theta}_i$ , garantindo, primordialmente, a minimização da soma dos resíduos. A condição de convergência é determinada pelo próprio usuário no início do processo recursivo.

#### 4.3.4 Eficiência de remoção, carga aplicada e removida

Para reatores em batelada, a definição de eficiência de remoção, válida para qualquer parâmetro consumido ao longo da operação, é a mesma aplicada para reatores contínuos, em que:

$$\varepsilon (\%) = \frac{C_{SA} - C_S}{C_{SA}} \cdot 100 \quad (22)$$

sendo  $C_{SA}$  a concentração de entrada de substrato e  $C_S$  a concentração de final de ciclo.

Para os perfis e no modo de batelada alimentada, independente do tempo de enchimento, a eficiência global do ciclo é dada por

$$\varepsilon (\%) = \frac{[(V_B C_{S_0} + C_{S_A} V_{A_{BA}}) - C_S (V_B + V_{A_{BA}})]}{V_B C_{S_0} + C_{S_A} V_{A_{BA}}} \cdot 100 \quad (23)$$

em que  $V_B$  é o volume adicionado nos 10 primeiros minutos de ciclo para preencher completamente o reator e uma quantidade de volume de segurança, 100 ml, no reservatório;  $C_{S_0}$  é a concentração medida no tempo zero antes de iniciar o ciclo;  $C_{S_A}$  é a concentração afluyente ao reator, vinda diretamente da DASM preparada;  $V_{A_{BA}}$  é o volume total adicionado ao final da batelada alimentada e  $C_S$  é a concentração de substrato no final do ciclo. Lembrando que o termo  $V_B C_{S_0}$  deve ser considerado pelo fato de abranger o volume e a concentração residual, embutindo o efeito de diluição inicial na massa inicial de qualquer substrato do ciclo.

A carga aplicada para qualquer substrato deve ser obtida da seguinte forma:

$$CA = n \cdot C_{S_A} \cdot \left(\frac{V_A}{V_R}\right) \quad (24)$$

em que  $V_A$  é o volume alimentado,  $V_R$  é o volume reacional total e  $n$  é o número de ciclos diários.

Da mesma maneira, a carga removida pode ser descrita como:

$$CR = n \cdot (C_{S_A} - C_S) \cdot \left(\frac{V_A}{V_R}\right) \quad (25)$$

#### 4.3.5 Ensaios e modelagem cinética

A partir do momento que se relatou sinais de repetitividade dos parâmetros monitorados, optou-se por traçar o perfil temporal dessas variáveis. Foram necessários 12 dias de coleta, preparo e leitura das amostras para se completar o perfil reacional em triplicata. Ao longo das 8 horas de um ciclo, monitorou-se dois parâmetros por vez, com intervalo de 1 hora entre a coleta das amostras. A divisão se deu dessa maneira pelo fato de não se ter tempo suficiente para a análise de todos os parâmetros nesse intervalo, já que as análises de sulfeto, DQO, pH e alcalinidade devem ser feitas rapidamente após a coleta e as amostras de sulfato devem ser centrifugadas a fim de decantar todos os sólidos que possam interferir na análise turbidimétrica utilizada. Sendo assim, a cada três dias completava-se um ensaio de perfil, monitorando-se sulfato e sulfeto no primeiro dia, DQO e ácidos orgânicos voláteis no segundo e pH juntamente com alcalinidade no terceiro. Com isso, adequou-se um modelo cinético aos dados de modo a se estimar os parâmetros cinéticos vinculados ao consumo e produção de espécies químicas no AnSBBR. Novamente, como ferramenta para ajuste de

modelos não lineares fez-se uso dos pacotes disponíveis no R® 3.5.1, partindo, sempre, do algoritmo de Levenberg-Marquardt, que minimiza a distância entre os pontos experimentais e os valores de respostas preditos pelo modelo de uma maneira poderosa.

Como se sabe num sistema de digestão anaeróbia há várias rotas metabólicas que transformam as moléculas orgânicas mais complexas em espécies químicas mais simples. Microrganismos de diferentes espécies atuam nessa tarefa de mineralização da matéria orgânica, utilizando diferentes moléculas como aceptores de elétrons.

É importante ressaltar que a prevalência de algumas dessas rotas depende das condições bioquímicas fornecidas ao longo da operação. Porém, independente dessas características bioquímicas iniciais, em primeiro momento, é de se esperar que as reações de hidrólise se façam importantes, convertendo moléculas carbonáceas maiores em espécies químicas de cadeias carbônicas com menor extensão, como açúcares, aminoácidos e ácidos graxos, disponibilizando-as para a fermentação, realizada pelas bactérias acidogênicas. Além da acidogênese, na presença de sulfato, duas rotas sulfetogênicas podem ser acessadas, a acetogênica e a não-acetogênica. De um modo geral, na primeira, a matéria orgânica carbonácea remanescente das rotas anteriores é convertida em acetato pelas BRS incompletas, e na segunda, convertida em gás carbônico por um gênero pertencente às BRS completas, que também pode usar o hidrogênio proveniente da acidogênese na redução. Ainda na rota completa, esta última espécie microbiana também pode converter o acetato intermediário em carbono inorgânico (BARTON; HAMILTON, 2007).

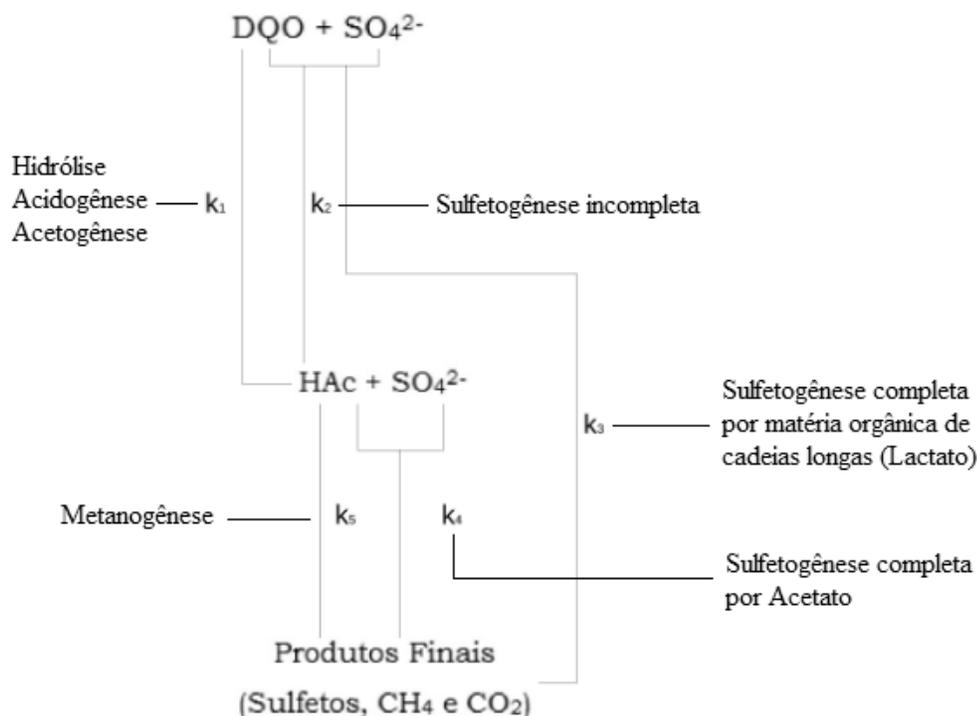
Outra possibilidade metabólica para o destino do acetato é a utilização na metanogênese pela arqueias acetoclásticas. Dessa forma, para ajuste do modelo cinético, e com a impossibilidade de quantificação de algumas espécies químicas como CO<sub>2</sub>, hidrogênio, metano e sulfeto de hidrogênio em fase gasosa, inviabilizando uma aplicação do ADM1, os comportamentos modelados foram apenas o de consumo de sulfato juntamente com o de matéria orgânica em termos de DQO e a produção de acetato. Além disso, as seguintes considerações foram feitas:

- i- Toda matéria carbonácea (moléculas orgânicas maiores) oriunda do soro em pó bruto e presente nas rotas de hidrólise, acidogênese e acetogênese foi contabilizada como DQO<sub>M.O.</sub>, já que existe uma grande complexidade de quantificação individual destes compostos;
- ii- Essa DQO<sub>M. O.</sub> é resultado da subtração da DQO filtrada pela DQO relativa as formas do sulfeto presente na fase líquida e pela DQO proveniente do ácido acético, produto intermediário da digestão anaeróbia;

- iii- O acetato foi modelado em termos de DQO teórica para adequação do modelo;
- iv- As reações foram de 1ª ordem para as leis de velocidade que englobaram uma espécie química individual e, conseqüentemente, de 2ª ordem quando dois substratos estavam presentes.

Foi considerado, aqui, a seguinte sucessão de reações bioquímicas em ambientes anaeróbios, sendo  $k_1$  a constante cinética referente ao consumo de DQO pela acidogênese,  $k_2$  a constante cinética referente à sulfetogênese incompleta,  $k_3$  referente à sulfetogênese completa utilizando a matéria orgânica mais complexa como doadora de elétrons,  $k_4$  a constante correspondente à sulfetogênese completa partindo do acetato como doador e  $k_5$  o coeficiente cinético relacionado à metanogênese acetoclástica. A Figura 6 esquematiza essas rotas:

Figura 6 – Rotas metabólicas consideradas para a modelagem cinética



Fonte: Do autor.

Por fim, o sistema de equações diferenciais ordinárias resultante das considerações feitas até aqui é:

$$\frac{dDQO}{dt} = -k_1 \cdot DQO - k_2 \cdot DQO \cdot SO_4^{2-} - k_3 \cdot DQO \cdot SO_4^{2-} \quad (26)$$

$$\frac{dSO_4^{2-}}{dt} = -k_2 \cdot DQO \cdot SO_4^{2-} - k_3 \cdot DQO \cdot SO_4^{2-} - k_4 \cdot HAc \cdot SO_4^{2-} \quad (27)$$

$$\frac{dHAc}{dt} = k_1 \cdot DQO + k_2 \cdot DQO \cdot SO_4^{2-} - k_4 \cdot HAc \cdot SO_4^{2-} - k_5 \cdot HAc \quad (28)$$

Esse conjunto de EDOs foi chamado de modelo I. A partir da condição B, considerando a alta DQO residual,  $DQO_R$ , e as altas concentrações residuais de sulfato,  $SO_{4R}^{2-}$ , o modelo II foi desenvolvido, e pode ser classificado como um modelo cinético de 1º ordem modificado. As leis de velocidade do modelo II ficam assim dispostas, sendo  $SO_{4R}^{2-}$  e  $DQO_R$  constante ao longo de toda iteração e referente à DQO e a concentração de sulfato no final do ciclo:

$$\frac{dDQO}{dt} = -k_1 \cdot (DQO - DQO_R) - k_2 \cdot (DQO - DQO_R) \cdot (SO_4^{2-} - SO_{4R}^{2-}) - k_3 \cdot (DQO - DQO_R) \cdot (SO_4^{2-} - SO_{4R}^{2-}) \quad (29)$$

$$\frac{dSO_4^{2-}}{dt} = -k_2 \cdot (DQO - DQO_R) \cdot (SO_4^{2-} - SO_{4R}^{2-}) - k_3 \cdot (DQO - DQO_R) \cdot (SO_4^{2-} - SO_{4R}^{2-}) - k_4 \cdot HAc \cdot (SO_4^{2-} - SO_{4R}^{2-}) \quad (30)$$

$$\frac{dHAc}{dt} = k_1 \cdot (DQO - DQO_R) + k_2 \cdot (DQO - DQO_R) \cdot (SO_4^{2-} - SO_{4R}^{2-}) - k_4 \cdot HAc \cdot (SO_4^{2-} - SO_{4R}^{2-}) - k_5 \cdot HAc \quad (31)$$

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ENSAIOS HIDRODINÂMICOS ABIÓTICOS

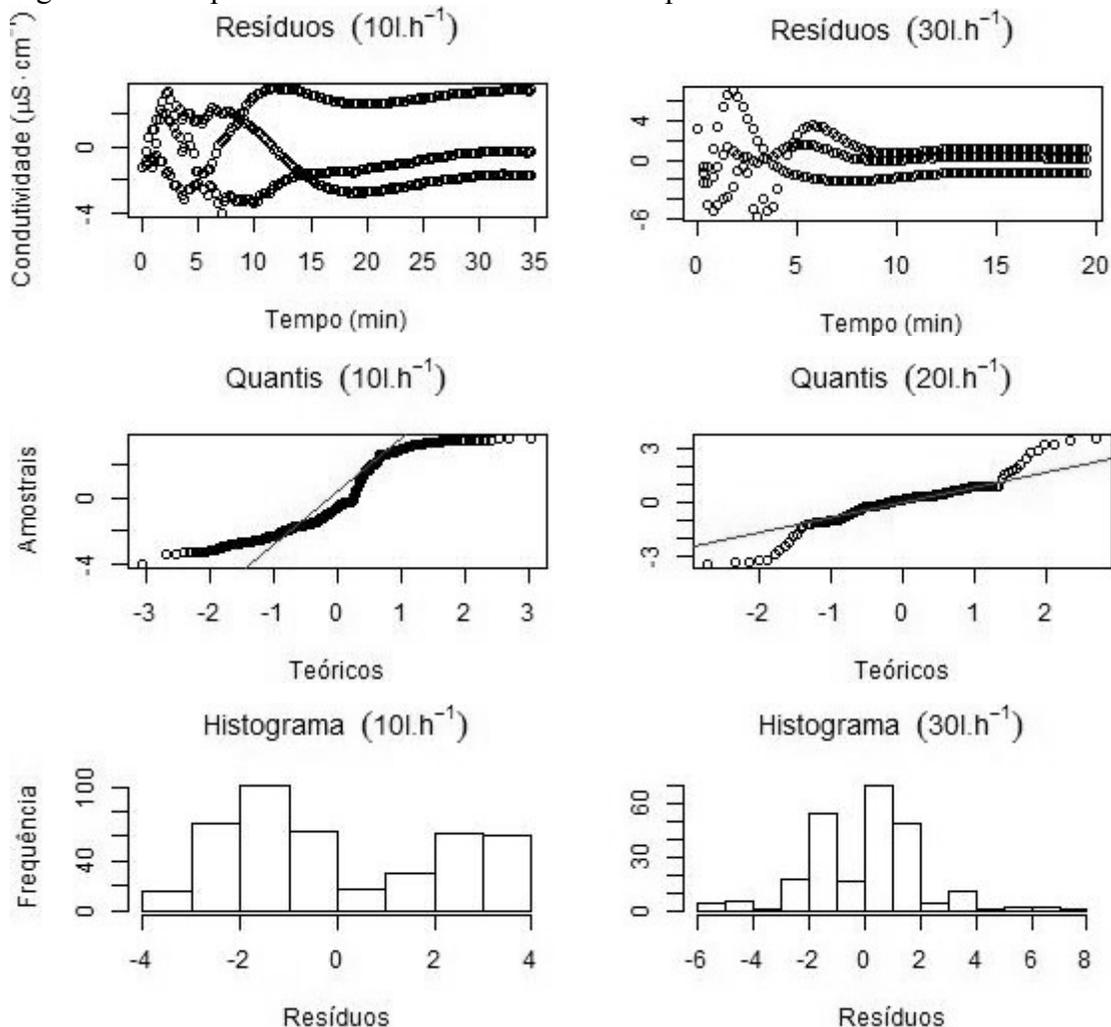
#### 5.1.1 Tempo de mistura

Como de costume, a primeira opção para a determinação do tempo de mistura em reatores bateladas é ajustar, ao conjunto de respostas obtido durante o ensaio, uma sigmoide, seja ela de Boltzmann, de Gompertz ou a Logística. Vários autores utilizaram desse artifício e os resultados foram satisfatórios. Nesses casos, o comportamento da resposta pode ser equiparado a um “S” alongado nos extremos, de forma que se atinja um platô, um valor máximo de resposta sem retrocesso, quando há uma aproximação do tempo de mistura total, indicando, assim, a diluição máxima possível dos componentes no meio reacional. A primeira tentativa de ajustar o modelo de Boltzmann foi, de certa forma, um sucesso. Todas as estimativas dos parâmetros da regressão não linear foram estatisticamente significantes para o modelo com p-valor próximo de zero (a maior parte deles da ordem de  $10^{-16}$ ). Com isso, considerando um nível de significância de 5%, tem-se que a hipótese nula é refutada, ou seja, todos os parâmetros diferem de zero. Porém, para reatores em batelada com um período de oscilação na resposta logo antes de se atingir a estabilidade, o modelo sigmoide é precário no quesito representação experimental dos dados. Os valores obtidos teoricamente diferem de uma maneira significativa daquilo que é relatado na prática. Por outro lado, o ajuste do modelo de sistemas de segunda ordem em controle de processos aos dados experimentais permitiu, mais confiavelmente, estimar os parâmetros e correlacioná-los com o tempo de mistura, de acordo com cada vazão de recirculação estudada. Nesse trabalho, optou-se por considerar a vazão como termo que caracteriza uma condição experimental, diferente daquilo visto na literatura, em que se relata, frequentemente, o termo velocidade de recirculação. Isso porque, a porosidade da espuma presente no leito é variável e incerta, tornando mais incerto ainda o cálculo da área de passagem do fluido, que contribui para determinação da velocidade. Sendo assim, consideramos que a vazão é uma característica hidrodinâmica melhor mensurável.

### 5.1.1.1 Análise estatística preliminar

Para o modelo subamortecido e o sigmoidal, os resíduos da regressão não linear ordinária, envolvendo a triplicata, apresentaram comportamento bastante discrepante do normal, fato comprovado pelo uso da estatística descritiva e analítica. O histograma de frequência, a distribuição dos quantis e a própria distribuição “resíduos por tempo” relatam esse desvio da idealidade e indicam uma possível alteração de curtose da distribuição e, em alguns casos, até uma leve assimetria na gaussiana. Essas anomalias sugerem uma mistura de distribuições de probabilidades, mas acredita-se, de certa maneira, que o fator preponderante na atual situação, é a correlação da variância das medidas experimentais com a equação ajustada pelo modelo. Isso fica evidente, na Figura 7, já que os resíduos apresentam, em torno do ponto médio, um comportamento oscilatório bastante evidente. Todos esses comportamentos estão presentes em todos os ajustes, mas, aqui, só se demonstrou aqueles de interesse para a execução do experimento. Ainda para corroborar essa hipótese de desvio de normalidade de uma maneira mais robusta, optou-se, também, por utilizar os testes estatísticos. Como esperado, todos os testes aplicados para verificar a normalidade falharam na hipótese nula indicativa de uma distribuição normal, considerando um nível de significância  $\alpha$  de 5%. Por exemplo, para o ajuste da vazão de  $20 \text{ L.h}^{-1}$ , o teste de Shapiro-Wilk apresentou um p-valor da ordem de  $10^{-8}$ , grandeza também relatada nos testes de Anderson-Darling e Kolgomorov-Smirnov, estando abaixo do valor de  $\alpha$ , e, conseqüentemente, mostrando que a hipótese  $H_0$  deve ser descartada. O p-valor para as outras vazões aproximou-se dessa ordem de grandeza relatada há pouco, com exceção da vazão de  $10 \text{ L.h}^{-1}$ , que apresentou p-valores da ordem de  $10^{-16}$ .

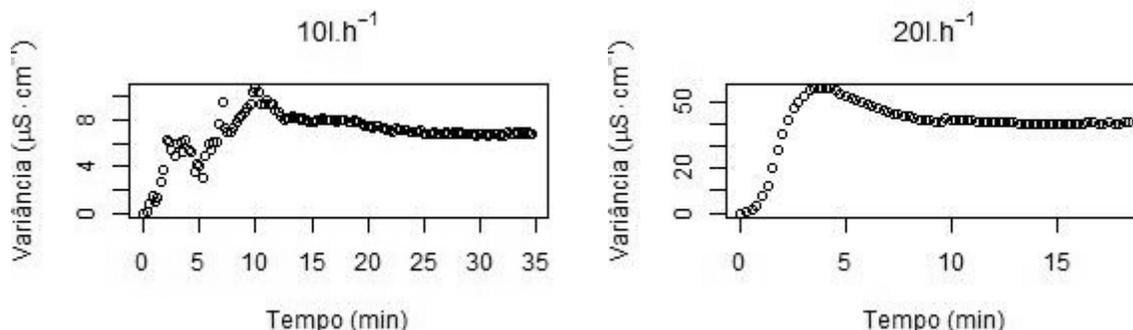
Figura 7 – Comportamento estatístico dos resíduos para diferentes vazões estudadas



Fonte: Do autor.

A não normalidade dos resíduos da regressão é acompanhada também da heterocedasticidade das respostas. Ou seja, para todos os experimentos, a variância ao longo da tomada das medidas não é constante, fato que viola um dos pressupostos da estatística paramétrica. Dessa forma, apesar dos estimadores dos parâmetros por mínimos quadrados ordinários continuarem não viesados, a eficácia na previsão das incertezas é bastante minimizada. Com isso, pra atenuar essa desconfiança nos erros padrões, é viável ponderar as medidas experimentais no algoritmo de regressão, a partir de um método conhecido como Mínimos Quadrados Generalizados, em que a atribuição dos pesos depende do comportamento da variância. Aqui, como visto na Figura 8, a variância apresenta uma distribuição parecida com a da variável resposta e, pode-se dizer então, que é função da variável dependente, tempo.

Figura 8 - Comportamento da variância dos dados experimentais de condutividade nos ensaios de mistura para as vazões de  $10 \text{ L.h}^{-1}$  e  $20 \text{ L.h}^{-1}$



Fonte: Do autor.

### 5.1.1.2 Ajuste dos modelos

Dessa forma, optou-se por modelar a variância em função do tempo, e atribuir cada valor obtido do modelo como fator de peso na respectiva variável resposta ao se aplicar o método dos mínimos quadrados ponderados. Partindo desse pressuposto, os parâmetros estimados da sigmoide de Boltzmann, que permitem o cálculo do tempo de mistura, para o reator estudado aqui, encontram-se na Tabela 5. Lembrando também que o ajuste foi feito para os dados em triplicata.

Tabela 5 - Estimativa dos parâmetros ajustados e tempo total de mistura com erro padrão para o ajuste da Sigmoide de Boltzmann

Estimativa	VAZÃO ( $\text{L.h}^{-1}$ )				
	10	15	20	25	30
A1	$(-13 \pm 2)$	$(-7 \pm 3)$	$(-7 \pm 2)$	$(-8,5 \pm 0,7)$	$(-1 \pm 2)$
A2	$(107,4 \pm 0,2)$	$(115,4 \pm 0,3)$	$(108 \pm 0,5)$	$(116 \pm 0,4)$	$(111,7 \pm 0,2)$
$t_i$ (min)	$(3,27 \pm 0,06)$	$(2,64 \pm 0,08)$	$(1,96 \pm 0,04)$	$(2,00 \pm 0,01)$	$(1,87 \pm 0,04)$
$\tau$ (min)	$(1,59 \pm 0,04)$	$(0,98 \pm 0,06)$	$(0,71 \pm 0,04)$	$(0,73 \pm 0,02)$	$(0,47 \pm 0,03)$
$t_0$ (min)	$(6,75 \pm 0,25)$	$(6,75 \pm 0,25)$	$(4,25 \pm 0,25)$	$(4,25 \pm 0,25)$	$(2,75 \pm 0,25)$
$t_{\text{mist}}$ (min)	$(19,8 \pm 0,4)$	$(13,1 \pm 0,3)$	$(8,9 \pm 0,3)$	$(8,7 \pm 0,3)$	$(7,6 \pm 0,3)$
$t_{\text{mist}}^*$ (min)	$(26,75 \pm 0,25)$	$(18,25 \pm 0,25)$	$(12,50 \pm 0,25)$	$(10,75 \pm 0,25)$	$(9,00 \pm 0,25)$

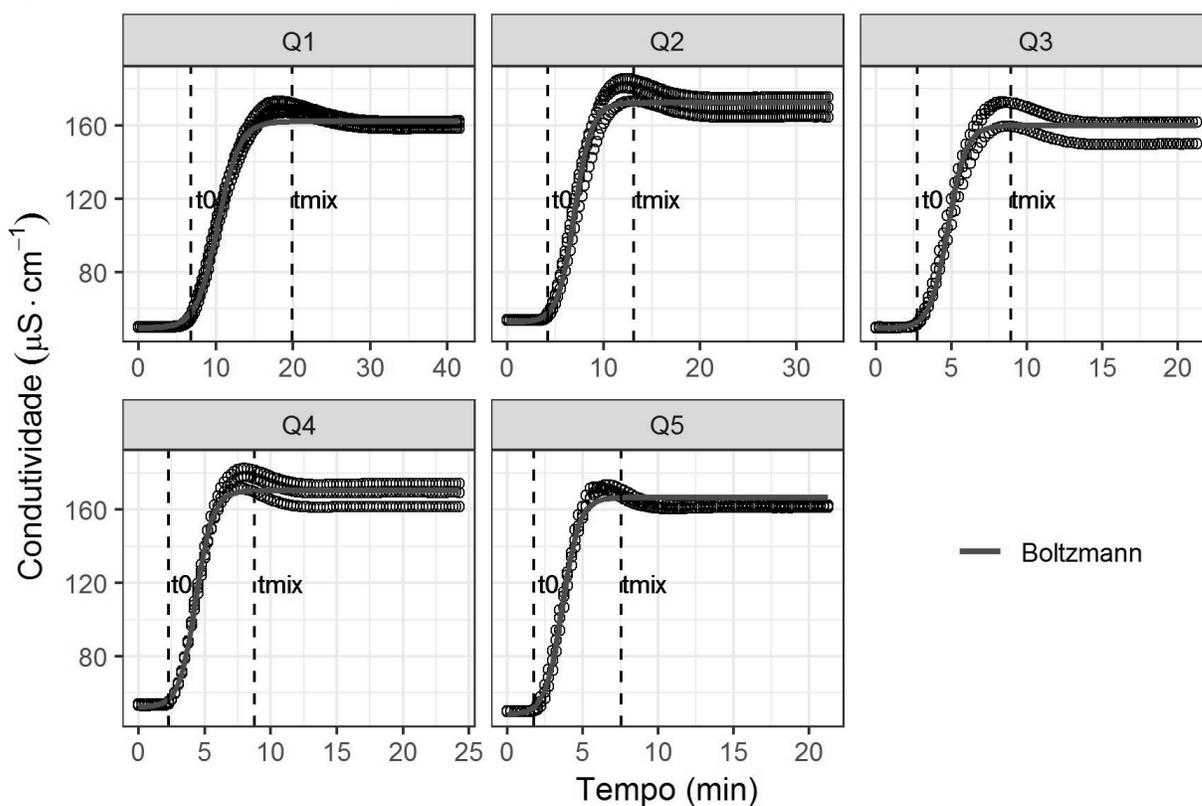
Fonte: Do autor.

Nota: \*Tempo de mistura observado experimentalmente.

Com esses parâmetros, têm-se a representação gráfica do experimento e do modelo. Na Figura 9, o gap entre esses dois comportamentos é mostrado nitidamente, deixando explícito que os resíduos deixados pelo ajuste são elevados. É evidente também uma grande discrepância entre o tempo de mistura total calculado e o respectivo valor empírico. Essa

variação é de 26% para a vazão de 10 L.h<sup>-1</sup>, 28% para a vazão de 15 L.h<sup>-1</sup>, 28% para a vazão de 20 L.h<sup>-1</sup>, 19% para a vazão de 25 L.h<sup>-1</sup> e 16% para a vazão de 30 L.h<sup>-1</sup>. Enquanto a estabilização da resposta acontece instantes depois do término da oscilação, o modelo sigmoidal indica que essa condição é alcançada momentos depois do pico máximo de condutividade, que é, de fato, incompatível com as observações experimentais. Sendo assim, pode-se dizer que modelo subestima o tempo total de mistura do meio reacional, sugerindo que essa não é a melhor opção para uma representação fiel dos dados.

Figura 9 – Ajuste do modelo sigmoidal de Boltzmann aos dados experimentais



Fonte: Do autor.

Na Tabela 6, assim como os valores médios dos parâmetros ajustados com o erro padrão, é mostrado o tempo de atraso e tempo de mistura total calculado e experimental para o modelo subamortecido.

Tabela 6 - Estimativa dos parâmetros ajustados e tempo total de mistura com erro padrão para o modelo Subamortecido

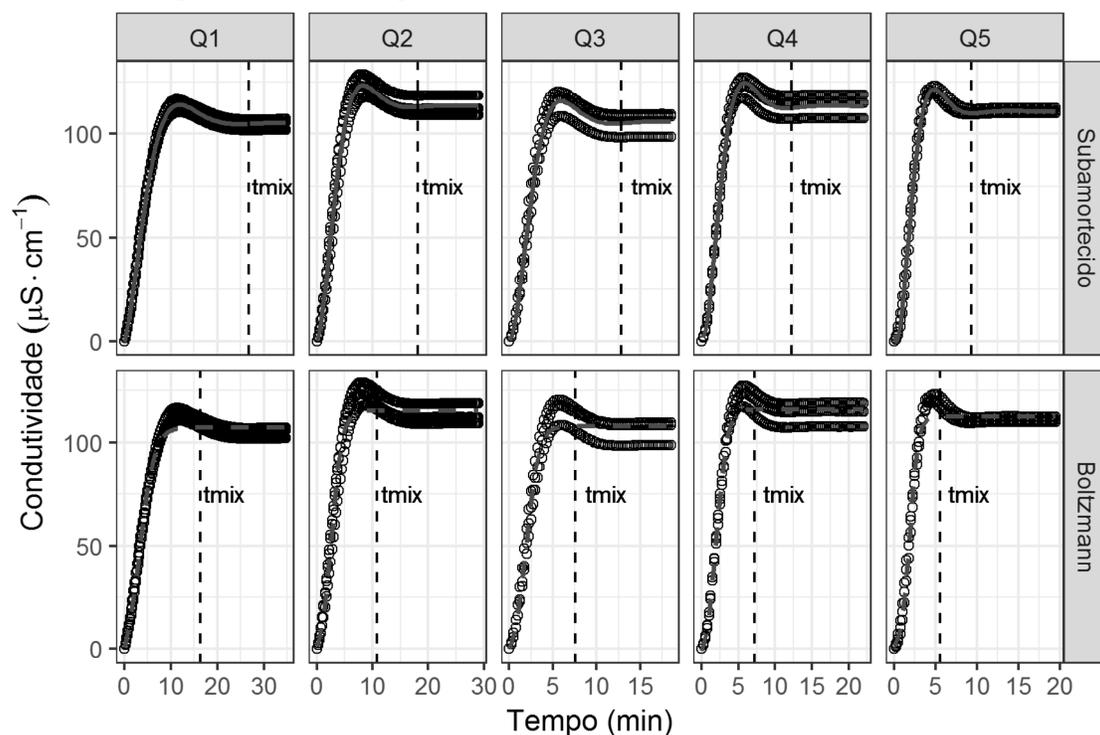
Estimativa	VAZÃO (L.h <sup>-1</sup> )				
	10	15	20	25	30
k (μS.cm <sup>-1</sup> )	(105,4±0,1)	(113,7±0,3)	(105,9±0,4)	(113,4±0,4)	(111,1±0,1)
ξ	(0,721±0,008)	(0,65±0,02)	(0,61±0,02)	(0,56±0,01)	(0,53±0,01)
ω <sub>n</sub> (min <sup>-1</sup> )	(0,277±0,005)	(0,44±0,02)	(0,65±0,03)	(0,71±0,02)	(0,99±0,02)
β	(0,809±0,007)	(0,83±0,02)	(0,81±0,03)	(0,78±0,01)	(0,69±0,01)
Φ	(1,10±0,02)	(0,98±0,04)	(0,93±0,02)	(0,85±0,02)	(0,75±0,02)
t <sub>0</sub> (min)	(6,75±0,25)	(4,25±0,25)	(2,75±0,25)	(2,25±0,25)	(1,75±0,25)
t <sub>mist</sub> (min)	(26,8±0,4)	(18,1±0,3)	(12,8±0,3)	(12,2±0,3)	(9,3±0,4)
t <sub>mist</sub> * (min)	(26,75±0,25)	(18,25±0,25)	(12,50±0,25)	(10,75±0,25)	(9,00±0,25)

Fonte: Do autor.

Nota: \*Tempo de mistura observado experimentalmente.

Antes de comentar sobre o modelo alternativo, é interessante ressaltar uma tendência. Quanto maior a vazão de recirculação, maior o grau de agitação do sistema e, mais rapidamente o meio alcançará uma distribuição uniforme em termos de concentração. Essa relação inversamente proporcional é confirmado pelos dados calculados de tempo total de mistura  $t_{mist}$ , registrados na Tabela 6. Os comportamentos estímulo-resposta do sistema, também chamado de comportamento de mistura, no domínio temporal, pra cada condição experimental, são mostrados na Figura 10, datando os tempos de atraso  $t_0$  e o total de mistura, aqui representado como  $t_{mist}$ . Lembrando também que o ajuste não linear foi aplicado nos valores das triplicatas realizadas e tentou-se aderir o modelo sigmoidal no conjunto de dados manipulados para efeito de comparação. Antes de comentar sobre os aspectos estatísticos do ajuste, atentamos para os parâmetros  $\beta$  e  $\Phi$ , ambos adimensionais. Essas variáveis, em controle, se relacionam com o outro parâmetro aqui ajustável,  $\xi$ . Porém, nesse trabalho, relatou-se a inexistência da correlação prevista em sistemas dinâmicos de segunda ordem entre essas variáveis, e, por isso, estes primeiros parâmetros não apresentam significado físico para o real entendimento do tempo total de mistura, sendo apenas constantes ajustáveis para boa adequação do modelo ao experimento.

Figura 10 - Ajuste do modelo Subamortecido e da Sigmóide de Boltzmann aos dados experimentais manipulados



Fonte: Do autor.

Analisando visualmente, fica evidente que o tempo total de mistura teórico se aproxima muito do tempo de mistura experimental, se este for definido como momento em que a curva cessa a oscilação, ou, em que a oscilação é a mais suave possível. Quantitativamente, o  $t_{mist}$  teórico é 0,1%, 1%, 2%, 12%, 4% menor que o  $t_{mist}^*$ , para as vazões de recirculação de 10, 15, 20, 25, 30  $L \cdot h^{-1}$ , respectivamente. Dessa maneira, o erro entre teoria e empirismo é amenizado nessa situação se comparado com o modelo sigmoidal. Isso sugere que o modelo de sistemas subamortecidos pode representar melhor o comportamento estímulo-resposta para reatores bateladas com recirculação, em que o volume reacional é insuficiente para diluir todos os componentes na primeira circulação, do que os modelos sigmoidais geralmente utilizados. Na próxima seção, inferências estatísticas serão firmadas, validando a hipótese descrita aqui.

Comparando o tempo de mistura experimental com o tempo destinado para as reações bioquímicas, no tratamento biológico, verifica-se que o tempo necessário para homogeneizar todo o meio corresponde a 7%, 5%, 3%, 3% e 3% do tempo total para 10, 15, 20, 25 e 30  $L \cdot h^{-1}$ , respectivamente. Fica evidente então que qualquer condição poderia ser escolhida para operar o AnSBBR, caso a única influência da vazão fosse o tempo de mistura. Pensando em recursos energéticos, a vazão de 10  $L \cdot h^{-1}$  seria a mais econômica. Porém, além da difusão

externa, outro fenômeno extremamente importante em reações heterogêneas é a transferência de massa interna, uma etapa simples, mas que pode limitar a velocidade da reação, caso as condições hidrodinâmicas não satisfaçam as etapas básicas de difusão interna, adsorção, reação e dessorção. Dessa forma, para impedir que a transferência de massa seja um empecilho no processo reacional, seria óbvio operar o sistema com a maior vazão estudada, de 30 L.h<sup>-1</sup>. Entretanto, com uma maior velocidade ascensional do meio, maior a possibilidade de desprendimento da biomassa aderida na espuma, o que não seria viável. Além disso, o comportamento hidrodinâmico do reator também influenciaria nessa questão e isso será discutido mais adiante. Sendo assim, como visto no trabalho de Lovato (2014), optou-se por operar o sistema com a vazão de recirculação média, de 20 L.h<sup>-1</sup>.

Apesar de fortes evidências experimentais de que o modelo para sistema de segunda ordem subamortecido seja mais representativo que a sigmóide de Boltzmann, é sempre aconselhável fazer uso de alguns critérios estatísticos para seleção de modelos não lineares, como o somatório quadrático dos resíduos, o AIC, BIC, e o critério de verossimilhança.

Tabela 7 - Resultados obtidos após aplicação dos critérios de avaliação para modelos não lineares

Ajuste	Subamortecido				Boltzmann			
	S.Q. <sub>R</sub>	AIC	BIC	Log Likelihood	S.Q. <sub>R</sub>	AIC	BIC	Log Likelihood
10 (L.h <sup>-1</sup> )	1832	1844	1868	-916	2267	2277	2297	-1133
15 (L.h <sup>-1</sup> )	2000	2012	2035	-1000	2158	2168	2188	-1079
20 (L.h <sup>-1</sup> )	1326	1338	1358	-663	1407	1417	1434	-704
25 (L.h <sup>-1</sup> )	1500	1512	1533	-750	1571	1581	1599	-785
30 (L.h <sup>-1</sup> )	883	895	915	-441	1193	1203	1220	-596

Fonte: Do autor.

Fica relatado, a partir da Tabela 7, que o modelo Subamortecido é, realmente, o mais adequado para representar o comportamento da variável resposta. Isso porque, o critério de verossimilhança, que aproxima o modelo testado do modelo abstrato real, é maior em todas as situações de ajuste estudadas, provando que os estimadores dos parâmetros nesse modelo são mais coerentes com as medidas experimentais da variável independente, quando comparado com o modelo de Boltzmann.

A somatória quadrática dos resíduos S.Q.<sub>R</sub> é maior para o ajuste de Boltzmann, evidenciando que esse modelo apresenta um maior desvio do que acontece empiricamente. Ou seja, temos mais um ponto positivo para o modelo Subamortecido. É claro que seria interessante quantificar as parcelas contribuintes dos resíduos. Sabe-se que os resíduos são

provenientes dos erros aleatórios, incontroláveis num experimento, e da indevida escolha do modelo, fenômeno conhecido como falta de ajuste (BARROS NETO et al., 2003). Se a contribuição deste último for maior, tem-se mais uma prova da ineficácia do ajuste de um modelo. Contudo, essa análise não foi feita, pelo fato de se necessitar de um aprofundamento estatístico maior com relação a implementação da ferramenta estatística ANOVA.

O critério de informação de Akaike, AIC, geralmente aconselhado para a seleção de modelos quando o número de observações  $n$  é, pelo menos, 40 vezes maior que o número de parâmetros  $p$ , como é o nosso caso, baseia-se na minimização da informação de Kullback-Leibler, K-L, que é uma medida de distância entre o modelo verdadeiro abstrato e os possíveis modelos candidatos. Portanto, pode-se dizer que quanto menor o AIC de um modelo, maior a proximidade deste com os dados experimentais (AKAIKE, 1973; BURNHAM; ANDERSON, 2002). Com isso, o modelo SSOS se mostra, mais uma vez, mais adequado.

O critério de informação bayesiano, proposto por Schwartz em (1978), leva em consideração a probabilidade de a variável resposta ser oriunda de um modelo qualquer. Supondo que, a priori, a distribuição de probabilidades dos modelos sejam iguais, a probabilidade a posteriori, calculada a partir dos dados coletados, deve ajudar na comparação dos modelos. Logo, aquele modelo que maximizar esta probabilidade deve ser o mais representativo para aquele conjunto de dados. Como o BIC está vinculado ao logaritmo negativo da máxima verossimilhança, quanto maior a probabilidade de máxima verossimilhança, menor deve ser o BIC. Semelhante ao AIC, o BIC para o modelo SSOS é mais representativo (EMILIANO, 2013).

### **5.1.2 Regime de fluxo no modo contínuo**

A Tabela 8 abaixo fornece a estimativa dos parâmetros para a regressão não linear dos modelos tradicionais. Por ela, fica claro que a difusividade dos íons mascara o entendimento hidrodinâmico real. O comportamento de cauda alongada sugere que o fluxo no reator diverge do fluxo pistonado já que o número de dispersão pra todas as vazões estudadas é da ordem de 10 vezes maior que o  $D/uL$  para o modelo de pequena dispersão. Por outro lado, o ajuste para os dados do pulso rebatido demonstra que o regime ao longo do leito é próximo do pistonado, com  $D/uL$  ligeiramente maiores que 0,01 (o leve aumento deve acontecer pelo espalhamento longitudinal acelerado dos íons cloretos ao longo do reator). Outra evidência de que o alongamento de cauda distorce o regime real é relação proporcional entre vazão de recirculação e a dispersão. Com maiores velocidade ascensionais, os íons estagnados nos

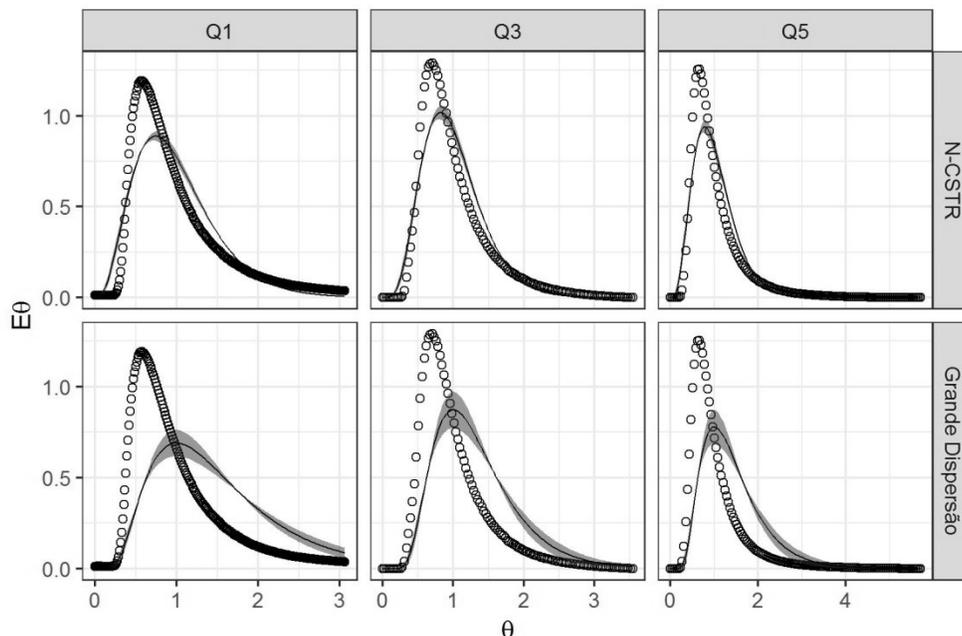
poros da espuma são carregados mais rapidamente pra fora do leito e a cauda decresce de maneira mais abrupta reduzindo o efeito da difusão. Porém, num cenário em que a difusão é a menor possível ou nenhuma anomalia é verificada, qualquer vazão de recirculação deve produzir praticamente o mesmo grau de dispersão no meio, haja visto as estimativas de  $D/uL$  e os respectivos erros para os dados de pulso rebatido na Tabela 8:

Tabela 8 - Parâmetros obtidos pelo ajuste dos modelos N-CSTR e Grande Dispersão aos dados do ensaio hidrodinâmico com o AnSBBR operando de forma contínua

Vazão	Cauda alongada		Pulso rebatido	
	N-CSTR	Grande dispersão ( $D/uL$ )	N-CSTR	Grande dispersão ( $D/uL$ )
Q1	(4,0±0,2)	(0,17±0,02)	(17,0±0,6)	(0,029±0,001)
Q3	(6,0±0,3)	(0,10±0,01)	(16,0±0,6)	(0,030±0,002)
Q5	(5,0±0,2)	(0,13±0,02)	(14,0±0,6)	(0,034±0,003)

Fonte: Do autor.

Figura 11 - Curvas  $E_\theta$  e modelos tradicionais ajustados para cada vazão de recirculação na situação de cauda alongada



Fonte: Do autor.

A Figura 11 também demonstra a dificuldade do modelo de grande dispersão representar os dados da cauda alongada. De fato, por considerar apenas a dispersão longitudinal, um termo que descreve o processo de difusão, após a passagem do pulso, do

leito para seio do líquido deveria ser inserido. Ainda levando em consideração a falha de predição, os íons que escapam do interior da espuma resultam em volumes útil de reator inesperados. Além disso, a difusividade relatada pelas longas caudas nos ensaios hidrodinâmicos abióticos dão indícios da resistência a transferência de massa que acontece no AnSBBR com recirculação da fase líquida para as diferentes velocidades ascensionais testadas. A Tabela 9 noticia que enquanto o método do pulso rebatido garante volumes de trabalho próximos daqueles preditos pelos ensaios de mistura e pela estimativa prática, a cauda alongada aumenta o tempo de detenção hidráulico e introduz volumes útil do reator com valores próximos ao valor do volume total do sistema.

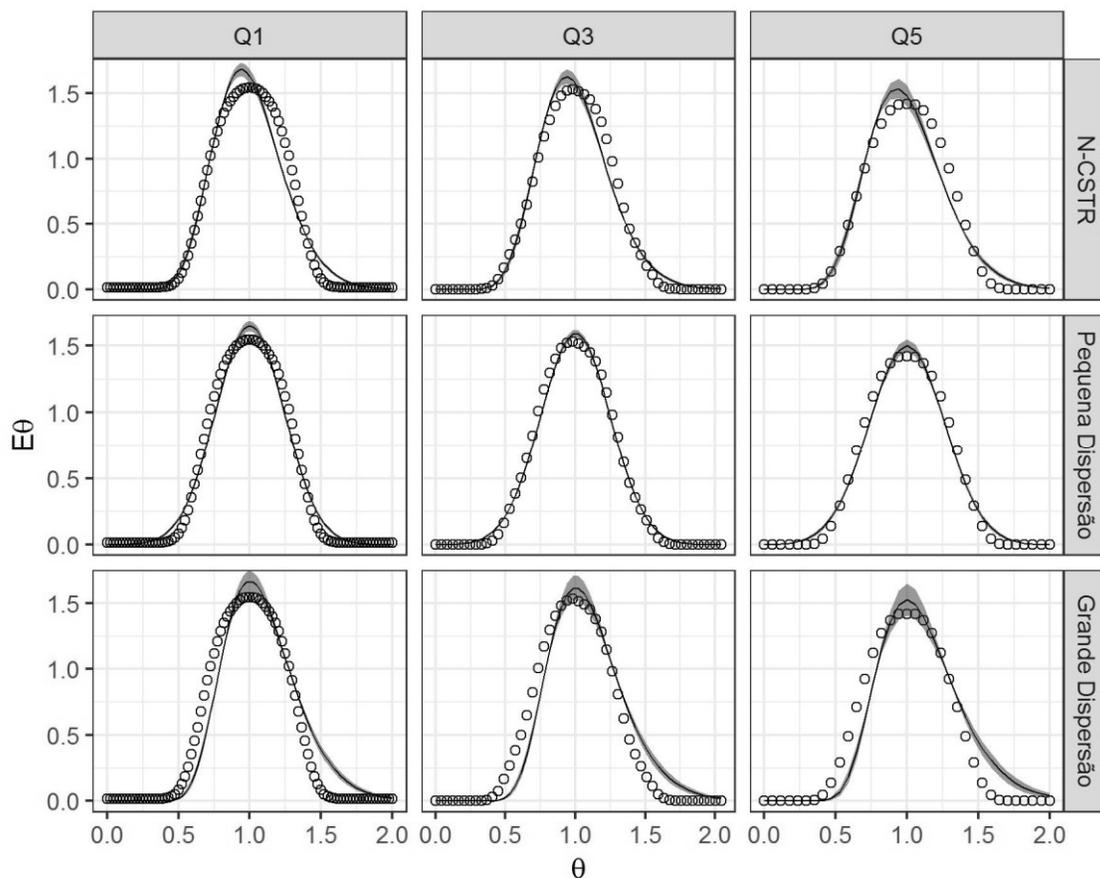
Tabela 9 - Volume útil e tempo de detenção calculados para os dados brutos do ensaio hidrodinâmico e os dados manipulados por meio do pulso rebatido

Vazão	Cauda alongada		Pulso rebatido	
	$V_{\text{reator}}$ (L)	$\Theta_h$ (min)	$V_{\text{reator}}$ (L)	$\Theta_h$ (min)
Q1	3,17	19,00	1,83	11,00
Q3	2,97	8,90	2,04	6,12
Q5	3,23	6,45	2,12	4,25

Fonte: Do autor.

O melhor ajuste dos modelos tradicionais aos dados manipulados de modo a retirar o efeito de interação entre traçador e material suporte pode ser facilmente corroborado pela Figura 12:

Figura 12 - Situação do fluxo no leito do AnSBBR utilizando a técnica de pulso rebatido



Fonte: Do autor.

### 5.1.3 Volume útil do reator e sistema

O volume útil teórico, que considera as dimensões da estrutura e os cubos de espumas alocados no reator, é facilmente encontrado pela geometria e densidade da espuma. Para a configuração estudada aqui, o volume de trabalho deve ser aproximadamente de 3,6 litros. A Tabela 10 mostra alguns parâmetros utilizados no cálculo de obtenção do volume de trabalho de acordo com as duas técnicas anteriormente citadas. Pode-se dizer que os dois métodos fornecem  $V_u$  bem próximos do volume real disponível. Mas, de uma maneira geral, a estratégia que faz uso do pico máximo subestima a variável em questão. Uma possível resposta pra esse defeito é o fato desta técnica ser mais influenciada por variações no tempo de detenção hidráulico, possivelmente causadas por erros experimentais de medição e pela difusão aleatória dos eletrólitos. Até mesmo se tempos negligenciáveis comparado ao tempo total de ensaio fossem adicionados, como 15 ou 30 segundos, fossem adicionados ao tempo de detenção selecionado a partir dos dados, ocorreria um aumento no volume útil estimado por esse método que se aproximaria do valor creditado como real (valor teórico). Esse efeito

estaria presente na estimativa de volume feita pelo outro método que também considera o tempo de pico, porém, a flutuação no número de circulações seria irrelevante. Por fim, apesar dessas diferenças, a comparação entre esses dois métodos pelo teste t-pareado demonstra que a hipótese alternativa é refutada baseada num p-valor de 0,1 (superior ao p-valor de 0,05 equivalente ao intervalo de confiança de 95%), ou seja, a diferença entre as médias de  $V_u$  considerando todos os ensaios é diferente de zero. Portanto, pode-se dizer que os métodos garantem a mesma estimativa de volume de trabalho e funcionam bem na predição dessa variável.

Tabela 10 - Volume útil do sistema obtido pelo ensaio de mistura (método Subamortecido) e pelo método de Pico

Vazão	Subamortecido			Pico		
	$C_{mist,t}$ (mg.L <sup>-1</sup> )	$V_{mist,t}$ (L)	N	$V_u$ (L)	$t_{pico}$ (min)	$V_u$ (L)
Q1	50,52	4,93	1,37	3,60	19,00	3,14
Q2	54,48	4,57	1,45	3,15	13,00	3,15
Q3	50,53	4,93	1,44	3,42	9,00	2,89
Q4	54,01	4,61	1,37	3,36	8,00	3,26
Q5	53,39	4,66	1,40	3,32	6,00	3,21

Fonte: Do autor.

## 5.2 OPERAÇÃO DO ANSBBR

A operação das 10 fases do AnSBBR se deu ao longo de aproximadamente um ano, totalizando, no último dia de perfil, 1062 ciclos. O tempo de aplicação de cada etapa variou de acordo com as condições operacionais, e também, com os comportamentos inesperados que retardaram a duração de algumas fases. Pode-se citar como contra tempos, a fissura das mangueiras de recirculação, provocada pelo atrito com o rotor da bomba peristáltica, frequente no início da operação, e também, o rompimento das eletroválvulas de descarga, causada pela contrapressão do leito possivelmente colmatado. A Tabela 11 mostra a duração de cada fase do experimento:

Tabela 11 – Duração de cada fase estudada

Fase	Estratégia	Concentração	Duração (ciclos)
Adaptação	B	500 mg SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> .L <sup>-1</sup> e 1000 mg DQO.L <sup>-1</sup> *	270
I-A	B	500 mg SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> .L <sup>-1</sup> e 1000 mg DQO.L <sup>-1</sup>	150
II-A	BA (2h)	500 mg SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> .L <sup>-1</sup> e 1000 mg DQO.L <sup>-1</sup>	102
III-A	BA (4h)	500 mg SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> .L <sup>-1</sup> e 1000 mg DQO.L <sup>-1</sup>	69
I-B	B	1000 mg SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> .L <sup>-1</sup> e 2000 mg DQO.L <sup>-1</sup>	120
II-B	BA (2h)	1000 mg SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> .L <sup>-1</sup> e 2000 mg DQO.L <sup>-1</sup>	48
III-B	BA (4h)	1000 mg SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> .L <sup>-1</sup> e 2000 mg DQO.L <sup>-1</sup>	63
I-C	B	1500 mg SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> .L <sup>-1</sup> e 3000 mg DQO.L <sup>-1</sup>	63
II-C	BA (2h)	1500 mg SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> .L <sup>-1</sup> e 3000 mg DQO.L <sup>-1</sup>	72
III-C	BA (4h)	1500 mg SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> .L <sup>-1</sup> e 3000 mg DQO.L <sup>-1</sup>	30

Fonte: Do autor.

Nota: \*Na fase de adaptação, não se dosou Fe<sup>2+</sup> na DASM.

### 5.2.1 Considerações gerais

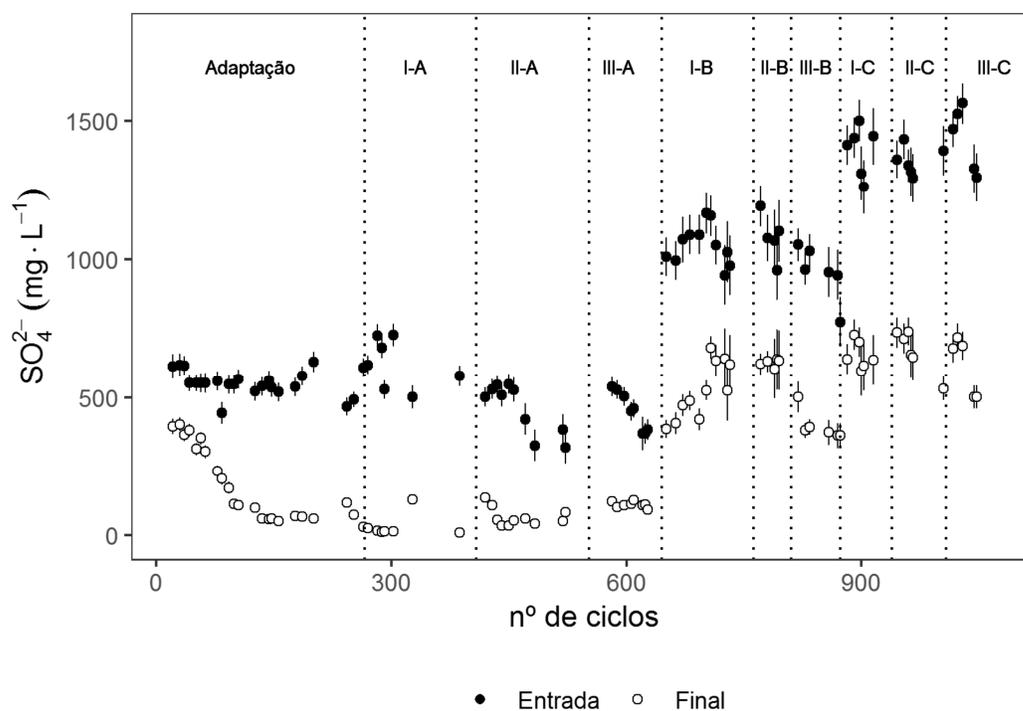
Nessa seção, em primeiro momento, fez-se um balanço qualitativo da aplicação do AnSBBR no tratamento da DASM, atentando-se às observações que se repetiram em todas as fases e ao comportamento das variáveis monitoradas de maneira mais generalizada, demonstrando-o em imagens que englobam todas as fases pra cada parâmetro. Posteriormente, cada condição de carga aplicada foi abordada única e exclusivamente, retratando de maneira detalhada, juntamente com inferências estatísticas, as principais características e fenômenos envolvidos em cada estratégia de alimentação.

Sendo assim, de uma maneira geral, pode-se dizer que as maiores eficiências de remoção de sulfato foram relatadas na condição A em que a carga orgânica volumétrica aplicada foi a menor dentre todas as outras cargas aplicadas, sugerindo maior predominância das BRS frente às outras espécies presentes na microbiota. Porém, as maiores CSR foram relatadas nas situações de menores remoções de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, o que fornece pistas de uma intensificação na disputa por substrato entre as espécies responsáveis pela sulfetogênese e aquelas capazes de fermentar a matriz orgânica complexa do soro. Ao atentar-se a COR, o reator também parece apresentar características metanogênicas em algumas situações. Com relação à remoção dos metais, até então, foi contabilizado apenas as concentrações de entrada e ao final de ciclo para ferro total dissolvido, e Fe<sup>2+</sup>, respectivamente, pelo método colorimétrico da fenantrolina. Isso porque o espectrofotômetro de absorção em chama, usado na análise de cobre e zinco, não estava disponível. Neste caso, a estratégia de alimentação em

batelada (10 min) apresentou as maiores eficiências na remoção de  $\text{Fe}^{2+}$  para as condições A, enquanto que, para as condições B e C, as diferentes estratégias de alimentação adotadas não influenciaram de maneira significativa o desempenho do reator nesse quesito.

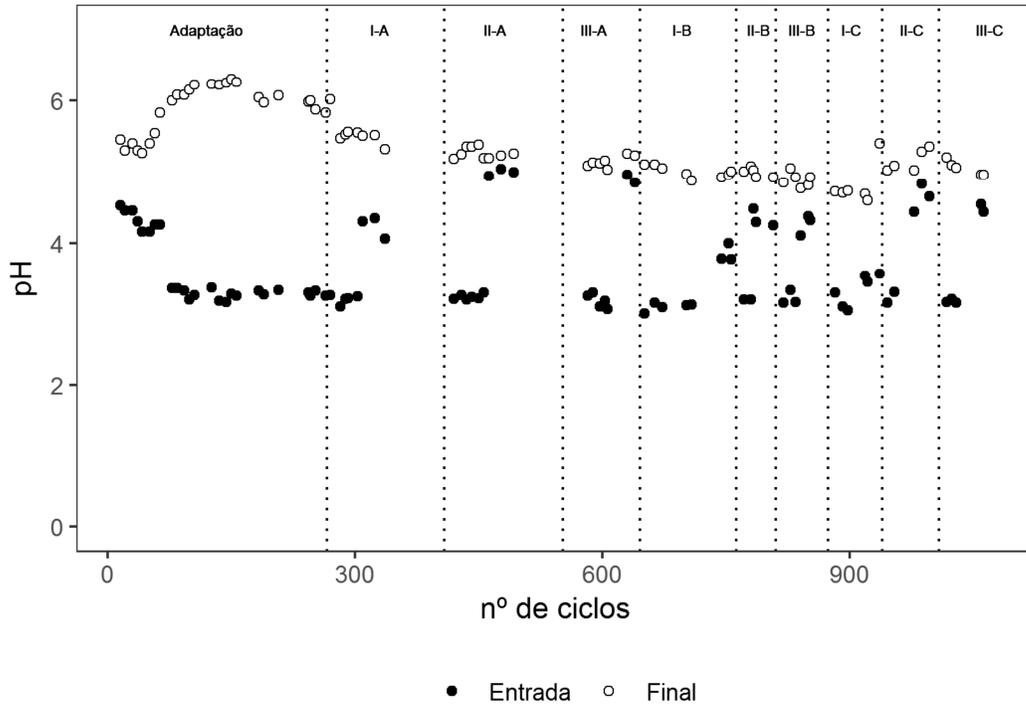
Os menores valores de ambas as variáveis, Figura 13 a 16, relatados mais ao final de cada fase e também nas outras espécies monitoradas, são referentes às amostras dos pontos iniciais de cada perfil, retiradas, sempre, do *headspace* do reator. Isso prova a existência de um fator de diluição, dado por um volume residual que permaneceu nos interstícios do leito ao final de cada ciclo.

Figura 13 - Sulfato monitorado ao longo da operação

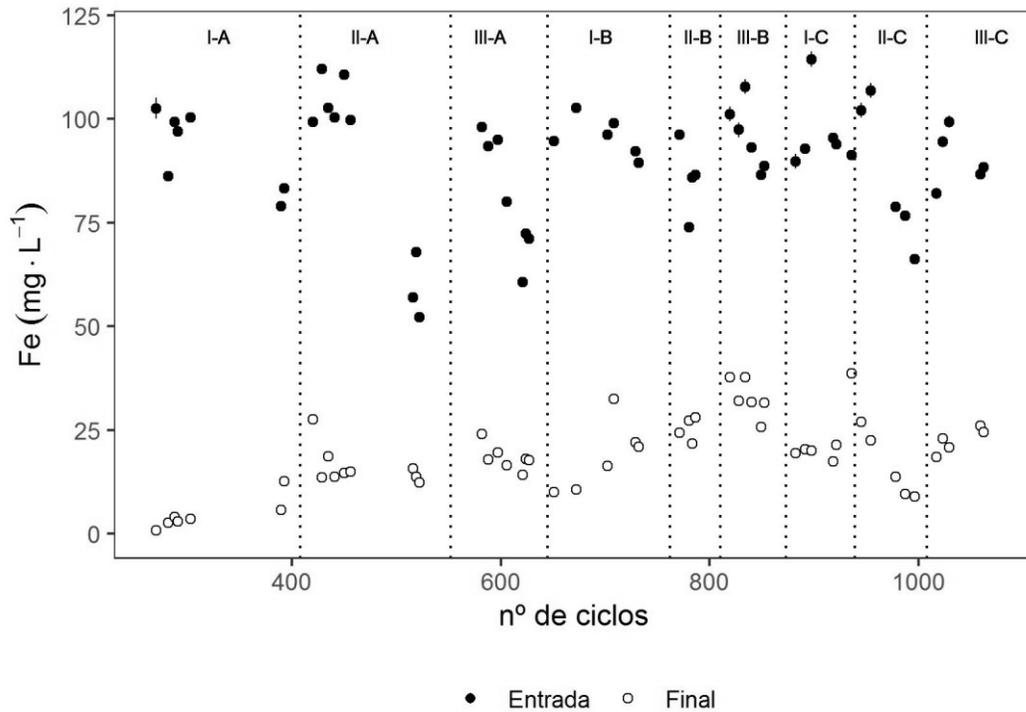


Fonte: Do autor.

Figura 14 - pH monitorado ao longo da operação

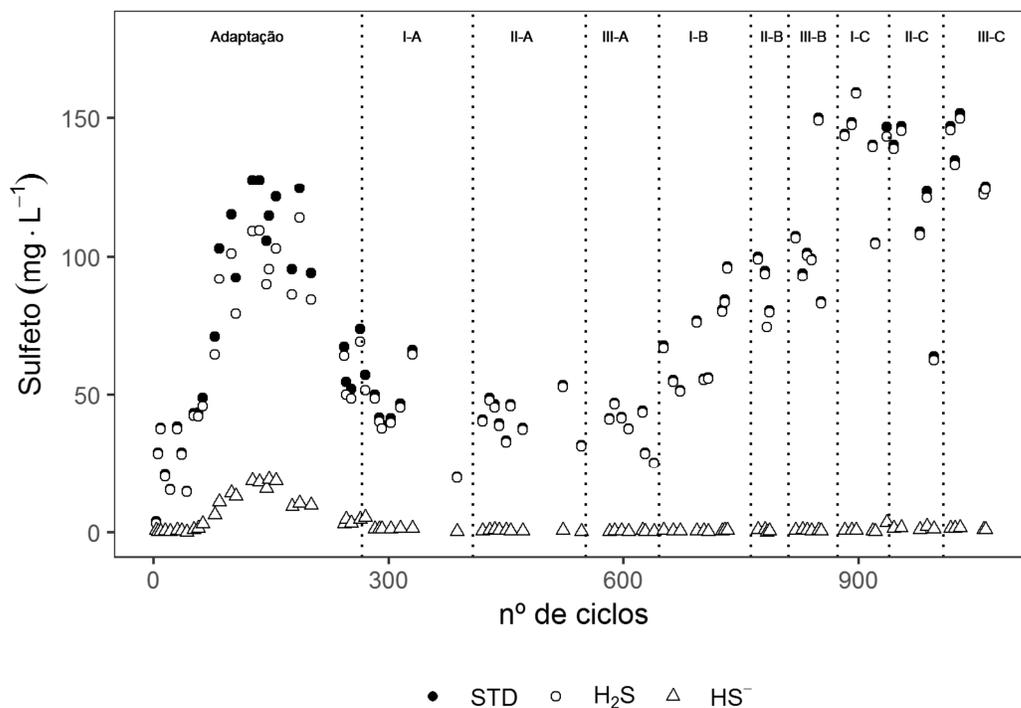


Fonte: Do autor.

Figura 15 -  $\text{Fe}^{2+}$  monitorado ao longo da operação

Fonte: Do autor.

Figura 16 – STD ao fim de ciclo monitorado ao longo da operação



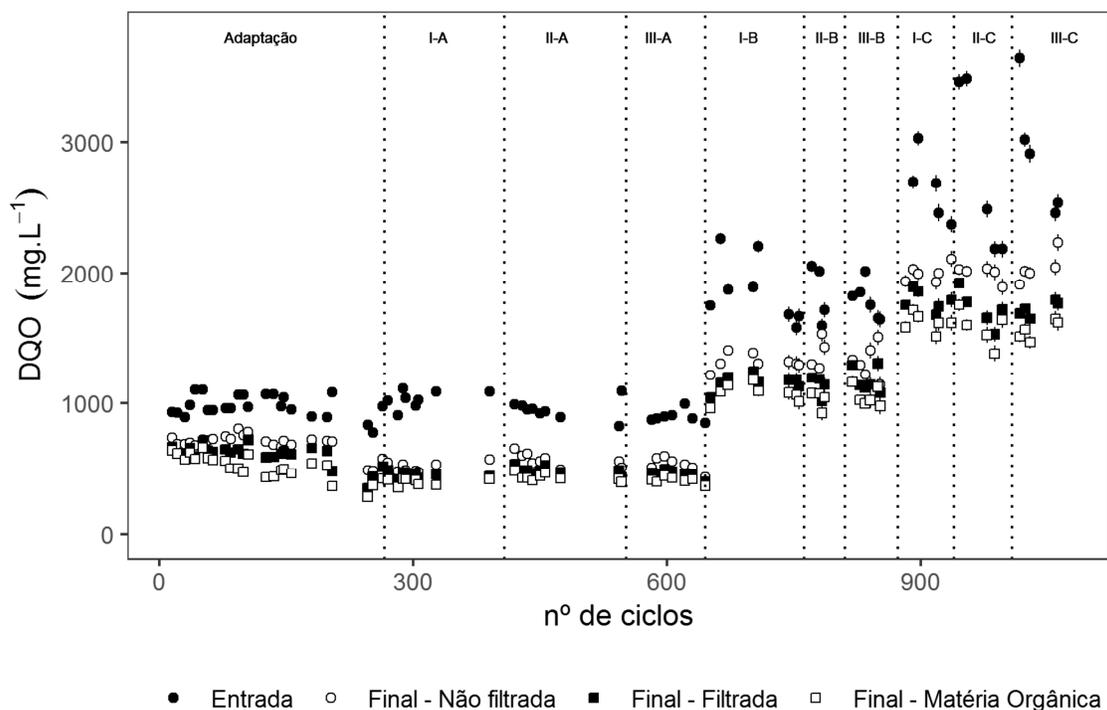
Fonte: Do autor.

Pela Figura 17, observa-se que em todas as situações, com exceção da fase de adaptação, praticamente 99% do sulfeto produzido permaneceu na fase não ionizada, graças aos valores de pH bem abaixo do pKa desse ácido, o que deveria ter permitido o escape da espécie pra fase gasosa. Porém, a pressão criada na atmosfera no headspace, deve ter facilitado a manutenção do sulfeto de hidrogênio na fase aquosa, visto a alta solubilidade desse gás em água. A remoção de DQO também apresentou valores ligeiramente maiores na condição A. Os valores de pH no final de ciclo sempre estiveram próximos a 5,0 com flutuações de  $\pm 0,2$  em algumas situações. Apesar de todas as alternativas fisiológicas desenvolvidas pelos microrganismos pra se adaptarem em condições de baixo pH, isso demonstra um grau de exigência, de certa forma, considerável, na operação do AnSBBR tratando esse tipo de efluente com pH inicial variando de 3,0 a 3,3. Além disso, pode-se relatar também que grande parte da alcalinidade presente nas amostras efluentes era proveniente dos ânions dos ácidos orgânicos produzidos e acumulados no sistema, indicando que todo bicarbonato produzido ao longo de 8h pela sulfetogênese não foi suficiente para consumir os prótons  $H^+$  de modo a se obter valores de pH próximos da neutralidade.

Em nenhum momento da operação se realizou a coleta de gases, pelo fato de se manter o headspace lacrado. Apesar de ser um aspecto positivo por manter as condições de

anaerobiose no meio, como dito anteriormente, essa estratégia adotada impediu a quantificação de metano e sulfeto no biogás produzido e colaborou no aumento da contrapressão do sistema.

Figura 17 - DQO monitorada ao longo da operação



Fonte: Do autor.

Na Figura 17, ao se atentar para o comportamento da matéria orgânica medida como DQO, é nítido, em todas as fases, que a DQO não filtrada ao final do ciclo foi sempre maior que a DQO filtrada, indicando um carregamento de sólidos para fora do reator, com concentrações variadas ao longo da operação. Diferente daqui, o desprendimento de sólidos foi relatado por Lovato (2014) e Archilha et al. (2010) somente nas primeiras fases de operação, garantindo que a imobilização se intensificou com o passar dos ciclos. Da mesma maneira, acredita-se que no momento da inoculação do reator, um excedente de biomassa tenha sido depositado entre os cubos de poliuretano já saturados de lodo. Esse acréscimo de biomassa fracamente aderido, e distribuído por todo o leito, sofreu cisalhamento pelo próprio movimento ascensional do líquido no início da operação, e, como o circuito é fechado, se acumulou no módulo receptor. Por isso, ao realizar o descarregamento pelo bocal de saída desta estrutura, a biomassa ali acumulada, como mostrado na Figura 18, era carregada para o

posto de coleta, aumentando a concentração de sólidos efluente e, conseqüentemente, a DQO não filtrada.

Figura 18 - Biomassa acumulada no módulo receptor ao final da fase III-A



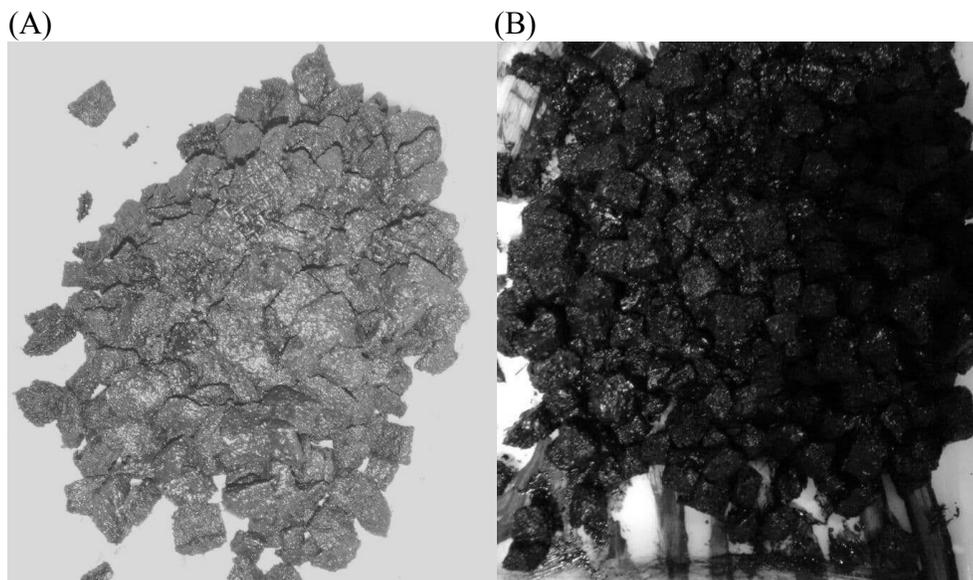
Fonte: Do autor.

De qualquer forma, isso explica a alta de DQO apenas nos valores das amostras não filtradas para as primeiras fases operacionais e o que se evidencia, pela Figura 17, é um aumento constante na diferença entre a DQO não filtrada e filtrada nas fases finais. Isso é um forte indício de que a retirada de sólidos do reator aconteceu de maneira contínua até o final da operação.

A captura da Figura 18 só foi possível, pois como o problema de desprendimento de sólidos persistiu ao longo das fases, optou-se por desmontar o reator a fim de averiguar qualitativamente a concentração de sólidos aderidos na espuma. A Figura 19 mostra que, até a fase III-A, toda superfície externa das espumas alocadas na última e penúltima câmara do leito estavam preenchidas com biomassa, reforçando a hipótese da ocorrência de uma oclusão do leito no momento da imobilização. Atentando-se às espumas da última câmara, pode-se dizer que, além de estarem aparentemente mais secas que as da câmara inferior, ocupavam

praticamente metade do volume útil disponível, indicando uma possível compactação do leito como um todo e uma consequente flotação.

Figura 19 - Espuma de poliuretano retiradas da (A) última câmara e (B) penúltima câmara do leito na fase I-B



Fonte: Do autor.

O interessante é que a compactação do leito pode ter se estabelecido também como fator principal no contínuo cisalhamento do lodo. Isto é, se o leito realmente estiver compactado, uma resistência adicional ao fluxo ascensional do líquido deve existir. Portanto, para uma maior perda de carga ao atravessar o reator, maior deve ser a velocidade de escoamento, aumentando as possibilidades do *wash out*. Curiosamente, algumas observações do comportamento operacional na condição A, como o rechicoteamento das mangueiras da recirculação e o aumento da rotação na própria bomba peristáltica para manter a vazão de recirculação de projeto, reiteram essa hipótese.

A Figura 20 mostra também que a compactação do conjunto material suporte e biomassa, bem como, o cisalhamento do lodo excedente podem ter provocado a fixação permanente de biomassa nas grades separadoras dos compartimentos, gerando, assim, maiores dificuldades da passagem do líquido pelo leito, e, possivelmente, caminhos preferenciais ou curto-circuitos, responsáveis por diminuir o aproveitamento do volume útil do reator e prejudicar o desempenho.

Figura 20 - Camada de lodo densa e maciça formada por toda superfície das grades que separavam os compartimentos do leito



Fonte: Do autor.

### 5.2.2 Fase preliminar - Adaptação

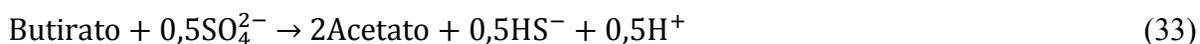
O período de inoculação do reator em questão se deu entre os dias 06 e 07 de julho do ano de 2017. Desconsiderando a fase de adaptação do lodo inoculado, que estava mantido em freezer por aproximadamente dois anos, pode-se dizer que a fase de adaptação, ainda sem adição de ferro na drenagem sintética, teve duração de 270 ciclos, com início no dia 24 de Julho de 2017, momento em que se aumentou a vazão de recirculação para 20 L.h<sup>-1</sup>. Até essa fase, a vazão de recirculação variou de 5 a 10 L.h<sup>-1</sup>, na tentativa de evitar algum problema de wash-out, já que se percebia uma concentração relativamente alta de sólidos suspensos, comprovada por análise gravimétrica e, variando entre 60 e 80 mg.L<sup>-1</sup>, no descarte final de cada ciclo. Após a alteração para vazão de projeto, o efluente esteve livre de altas concentrações de sólidos suspensos (abaixo de 20 mg.L<sup>-1</sup>) mas ainda assim, apresentou uma coloração esverdeada clara e levemente turva.

A etapa de readaptação da biomassa à DASM durou 48 ciclos. Nesse período, o pH de início de ciclo foi mantido em torno dos 4,8 e foi reduzido gradativamente à medida em que o sistema respondia, em termos de produção de sulfeto e pH, únicos parâmetros monitorados ao longo dos primeiros 21 ciclos de operação. A partir dessa data, com uma concentração de sulfeto total dissolvido equivalente a 40 mg.L<sup>-1</sup>, adicionou-se os metais cobre e zinco na drenagem sintética, e começou-se a monitorar os outros parâmetros importantes para o entendimento do comportamento bioquímico do sistema, como DQO e SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>. Lembrando que as amostras de AOV passaram a ser preservadas a partir de 30 ciclos após a partida, enquanto

que as análises de alcalinidade foram realizadas a partir do 75º ciclo de operação. Isso porque o pH do descarte apresentou valor acima de 5,75 apenas depois desse tempo de operação.

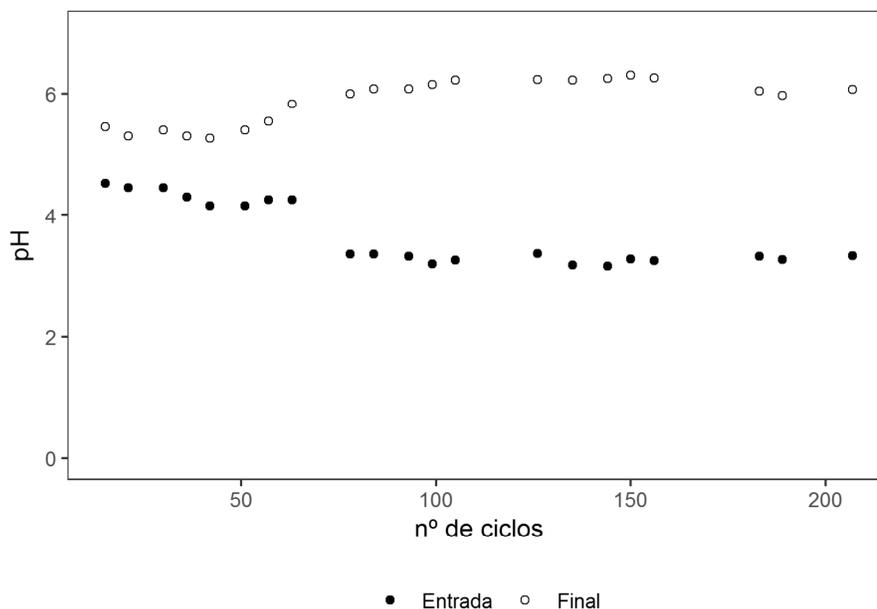
Passado 81 ciclos depois da partida, o reator aparentou sinais de repetitividade, como visto da Figura 21 a 26. Possivelmente, o tempo gasto pra se atingir constância no comportamento bioquímico do reator seria menor se o rompimento da mangueira de recirculação não tivesse ocorrido. Esse problema operacional, por sinal, já corrigido, permitiu que o reator “funcionasse a seco” por aproximadamente 40 horas. Felizmente, o reator aparentou boa capacidade de recuperação. Foram necessários 15 ciclos para que o reator voltasse à condição de operação anterior ao stress causado pela recirculação de ar. Nesse período, só analisou-se pH e sulfeto total dissolvido.

Sabe-se que a redução de sulfato em ambientes anaeróbios pode acontecer por inúmeras rotas metabólicas, já que as BRS são capazes de utilizar uma grande gama de moléculas orgânicas como doador de elétrons. As seguintes reações são esperadas em condições de anaerobiose (MUYZER e STAMS, 2008):



Como já informado, a fonte de carbono adicionada na DASM foi o soro de leite em pó, da marca Porto Alegre, geralmente, utilizada em indústrias de panificação, fabricantes de chocolates e sorvete. Seguindo a tabela de composição do fabricante, aproximadamente 75% do soro em pó é constituído por carboidratos, 13% por proteínas e o restante por gorduras e micronutrientes, como o fósforo. Dentre as moléculas orgânicas mais complexas, a lactose está presente de maneira preponderante no soro em pó. O composto é um dissacarídeo formado por glicose e galactose (FOX, 1997). Nesse sentido, e como é visto em Muyzer e Stams (2008), pode-se admitir que os carboidratos, proteínas e gorduras presentes no soro sofram hidrólise se tornando compostos orgânicos menores, como aminoácidos, açúcares, incluindo a glicose, e ácidos graxos, e também, que estes são convertidos em lactato, propionato, butirato e etanol, pela ação da acidogênese, consideraremos, aqui, para o balanço de massa de reagentes e produtos, que a rota metabólica principal é aquela presente na Eq. 34, dada as grandes quantidades de lactose no soro em pó, e a conversão de  $\text{SO}_4^{2-}$  observada nessa primeira etapa, vinculada a uma baixa remoção de matéria orgânica.

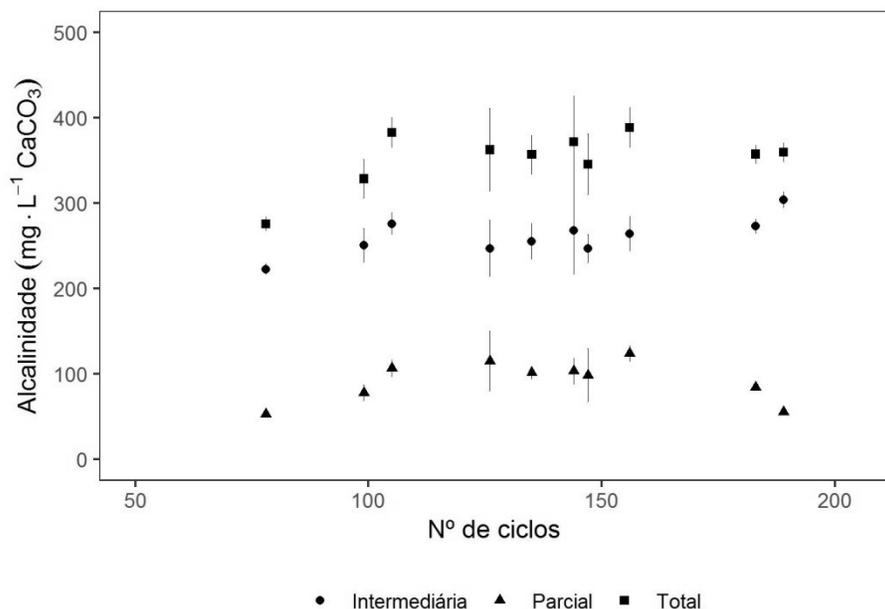
Figura 21 - Variação do pH relatado na fase de Adaptação



Fonte: Do autor.

Analisando a Figura 21, o primeiro ponto pode ser considerado um *outlier*, já que, no primeiro dia de operação, mais da metade do reservatório estava preenchido com o lodo líquido de pH equivalente a 7 e isso ocasionou um efeito de diluição da DASM. Observa-se uma crescente no pH final a partir do 48º ciclo. Além de indicar uma possível ambientação da biomassa ao meio já conhecido, nessa época, a vazão de recirculação aumentou em duas vezes, atingindo os 20 L.h<sup>-1</sup>. Dessa forma, durante um ciclo completo, o meio deve ter percorrido duas vezes mais todo o reator se comparado com a vazão de recirculação de 10 L.h<sup>-1</sup> previamente adotada. Esse aumento no número de recirculações promove maior contato com a biomassa aderida, favorecendo a ocorrência de mais reações bioquímicas. É como se o consórcio microbiano fosse exigido de uma maneira mais frequente. E, pelo jeito, as BRS foram predominantes. Com isso, conforme visto nas Eq. 32, 33 e 34, sem contar as outras rotas metabólicas existentes e não citadas aqui, há produção de alcalinidade a bicarbonato, além dos ânions de ácidos voláteis, que comportam como moléculas tampão, e reagem com o excesso de íons H<sup>+</sup> do meio, aumentando o pH, como visto nas análises de alcalinidade.

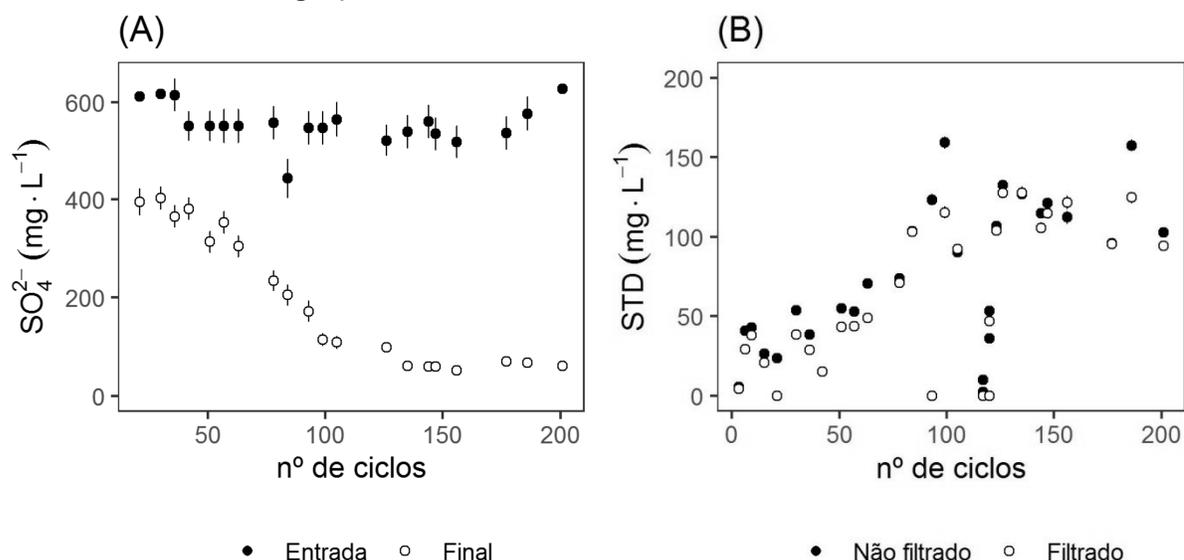
Figura 22 – Variação da alcalinidade no fim de ciclo relatada na fase de Adaptação



Fonte: Do autor.

Ainda para firmar que a sulfetogênese predominou frente às outras rotas, atentou-se à remoção de sulfato e a produção de sulfeto do AnSBBR. Outra vez, o aumento da vazão de recirculação e a diminuição do pH da DASM no início do ciclo vinculam-se a uma melhora na performance do reator, nesse caso, em termos da produção de sulfeto e da remoção de sulfato. A eficiência de remoção variou de  $(45\pm 17)\%$  até  $(90\pm 10)\%$ , atingida ao final do ciclo nº 204, com concentração de final de ciclo equivalente a  $(52\pm 6)$  mg.L<sup>-1</sup>. Lembrando que a relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> foi mantida acima de 1,7 e abaixo de 2,1 na fase 0. Desconsiderando os dias de recuperação do reator pelo stress sofrido graças à fissura na mangueira, a concentração de sulfeto não filtrado atingiu um valor de  $(159\pm 4)$  mg.L<sup>-1</sup>, enquanto, o sulfeto total dissolvido filtrado teve seu máximo de produção, com  $(128\pm 4)$  mg.L<sup>-1</sup>. A diferença de concentração entre esses dois parâmetros ultrapassou os 10% apenas duas vezes, e isso pode estar relacionado com a saída de sólidos suspensos do reator, já que o zinco dissolvido pode ter reagido com o HS<sup>-</sup>, resultando na precipitação de sulfeto de zinco ZnS. É bem provável que o cobre também tenha precipitado, porém, a análise por azul de metileno não contabiliza esse tipo de sulfeto metálico. Por fim, ao atingir a repetitividade, o reator produziu sulfetos com concentração aproximada de  $(120\pm 3)$  mg.L<sup>-1</sup>.

Figura 23 - Variação das concentrações de (A)  $\text{SO}_4^{2-}$  e (B) STD no fim de ciclo relatados na fase de Adaptação



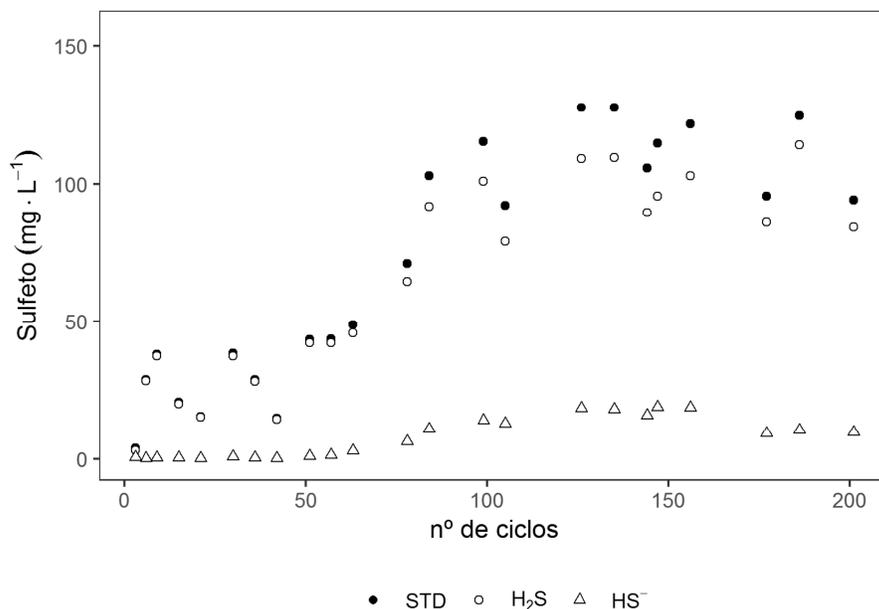
Fonte: Do autor.

As espécies de sulfeto dissolvido encontradas em ambientes anaeróbios se dividem em sulfeto de hidrogênio,  $\text{H}_2\text{S}$ , e hidrosulfeto,  $\text{HS}^-$ , sendo a distribuição dessas espécies governada pelo pH do meio reacional. Quanto mais ácido, maior a contribuição do  $\text{H}_2\text{S}$  na concentração de Sulfeto Total Dissolvido, como relatado em Lide (2005):

$$\text{H}_2\text{S} = \frac{\text{STD}}{1 + 10^{\text{pH} - \text{pK}_a}} \quad (35)$$

em que STD é a concentração de sulfeto total dissolvido e  $\text{pK}_a$  é o valor do pH em que se tem 50% de sulfeto de hidrogênio e 50% de hidrosulfeto em solução, nesse caso, equivalente a 7 na temperatura de  $30^\circ\text{C}$ .

Figura 24 - Distribuição do STD no final do ciclo relatada na fase de Adaptação



Fonte: Do autor.

Como visto, a maior parte do sulfeto esteve na forma não ionizada, H<sub>2</sub>S, implicando numa maior possibilidade de transferência dessa espécie da fase líquida para a fase gasosa, o que pode dificultar o futuro fechamento do balanço de massa nas reações de redução do sulfato, já que não se quantificou a vazão volumétrica produzida de biogás e nem a composição deste último.

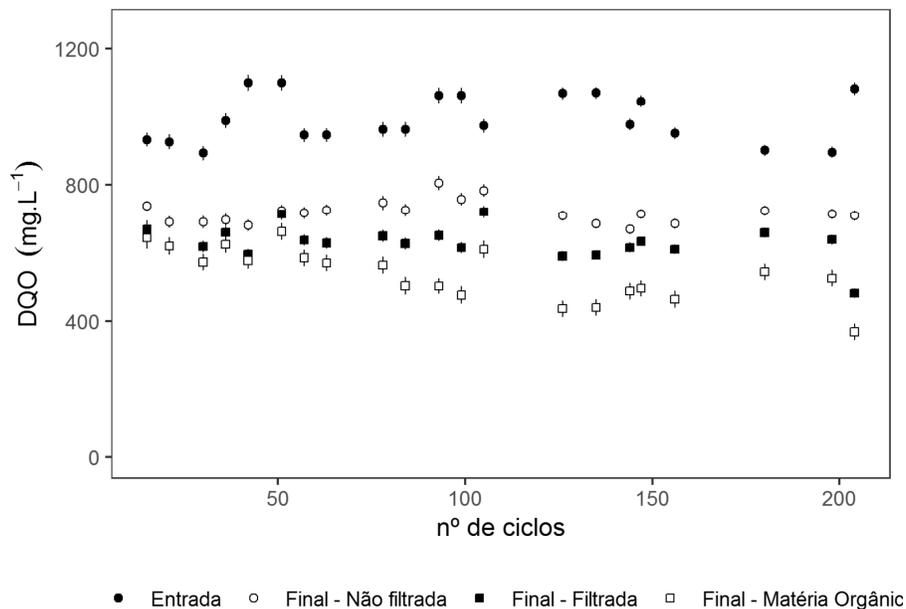
Com relação à remoção de matéria orgânica, contabilizada como DQO, relatou-se uma variação de (19±15)% até (36±6)% para as amostras não filtradas e uma variação de (38±8)% até (59±4)%, com valores acima de 50% sendo mais frequentes, para as amostras filtradas, ambas coletadas ao final dos ciclos. Lembrando que se fez um desconto na DQO filtrada, referente a todas as formas de sulfeto diluídas presentes na amostra, que também consomem íon dicromato segundo De Aquino et al. (2006), de acordo com a relação linear:

$$DQO_{\text{Sulfeto}} = 1,0871 \cdot [\text{Sulfeto Total Dissolvido}] + 15,428 \quad (36)$$

Pela Figura 25, noticiou-se que a distribuição da DQO não filtrada foi praticamente constante, bem como a da DQO filtrada, e ambas foram relativamente baixas. Logo, se a sulfetogênese for mesmo o fenômeno de maior importância no meio, boa parte da matéria orgânica que sai como DQO deve ser composta por ácidos orgânicos voláteis, como visto nas Eq. 32, 33 e 34. Isso, vinculado aos altos índices de remoção de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, sugere uma maior hegemonia das BRS incompletas, em termos de atividade, visto que na via completa pra

redução de sulfato, a matéria orgânica é encontrada na forma mais oxidada possível, e, portanto, a DQO no final de ciclo deveria ser menor.

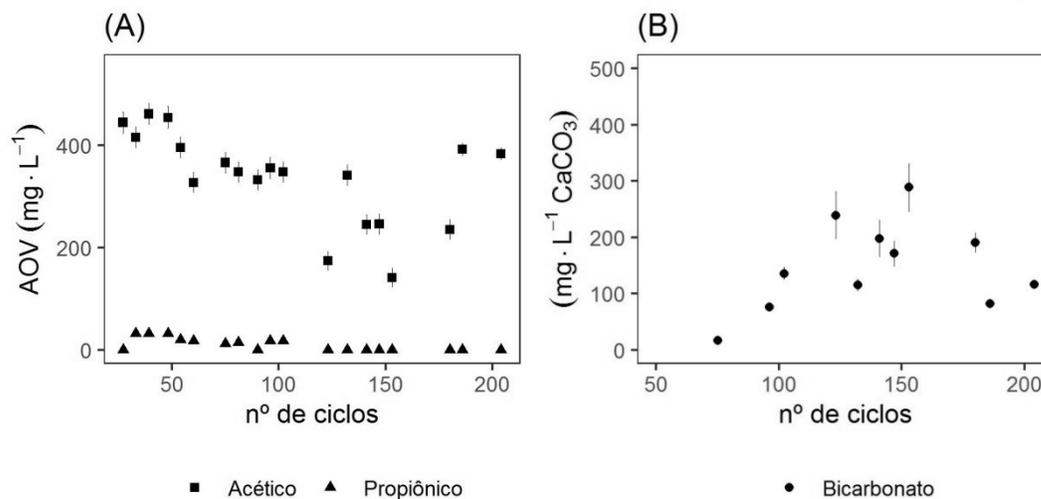
Figura 25 - Variação da DQO relatada na fase de Adaptação



Fonte: Do autor.

Com o intuito de identificar a quantidade de DQO representada pelos ácidos orgânicos voláteis, optou-se pelas análises em cromatografia gasosa conforme descrito na Seção 4.6.4. Os resultados mostraram a presença de apenas dois ácidos voláteis, sendo que o acético esteve presente, sempre, em maior quantidade, como visto na Figura 26.

Figura 26 - Variação das concentrações (A) de ácido acético e ácido propiônico ao fim de ciclo e (B) alcalinidade a bicarbonato ao fim de ciclo na fase de Adaptação



Fonte: Do autor.

Considerando que a DQO teórica do ácido acético é estipulada em 1,07 vezes a concentração desse ácido, a hipótese de grande contribuição da molécula na concentração final de DQO filtrada é confirmada. A DQO referente aos ácidos representou de 55% a 77% toda DQO filtrada presente no efluente do reator. Ou seja, tem-se mais uma indicação da maior acessibilidade à via incompleta da redução de sulfato por parte dos microrganismos ou à via fermentativa acidogênicas seguida da acetogênese por outras culturas. Lembrando que a parcela restante de DQO pode ser contabilizada como matéria orgânica residual da degradação do soro, graças à enorme variabilidade de moléculas orgânicas complexas na estrutura desse alimento nutricional.

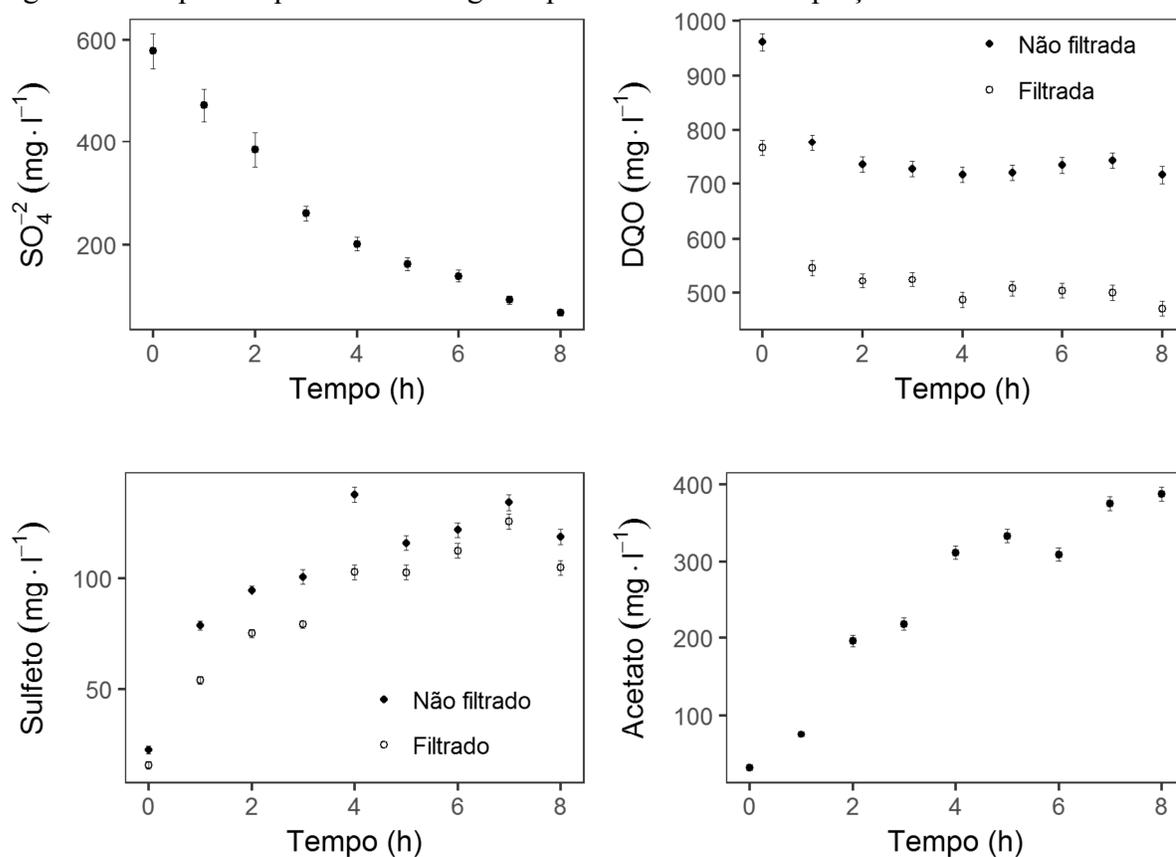
Por fim, é possível calcular a quantidade de massa removida de DQO, sulfato e ácidos orgânicos voláteis produzidos por ciclo do reator, para concretização do balanço de massa do sistema e determinação do possível favorecimento de uma rota metabólica específica. A carga orgânica removida para amostras não filtradas variou de  $(0,69 \pm 0,08)$  gDQO.ciclo<sup>-1</sup> a  $(1,16 \pm 0,07)$  gDQO.ciclo<sup>-1</sup>, com média de  $(0,84 \pm 0,08)$  gDQO.ciclo<sup>-1</sup>, enquanto a carga orgânica removida para amostras filtradas variou de  $(0,76 \pm 0,06)$  gDQO.ciclo<sup>-1</sup> a  $(1,41 \pm 0,05)$  gDQO.ciclo<sup>-1</sup>, com média de  $(1,12 \pm 0,06)$  gDQO.ciclo<sup>-1</sup>. A carga removida de sulfato variou de  $(0,60 \pm 0,12)$  gSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>.ciclo<sup>-1</sup> até  $(1,50 \pm 0,10)$  gSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>.ciclo<sup>-1</sup>, com média equivalente a  $(1,18 \pm 0,11)$  gSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>.ciclo<sup>-1</sup> e a produção de ácido acético apresentou variação de  $(0,98 \pm 0,06)$  gHAc.ciclo<sup>-1</sup> até  $(1,36 \pm 0,06)$  gHAc.ciclo<sup>-1</sup>, com média de  $(1,36 \pm 0,06)$  gHAc.ciclo<sup>-1</sup>.

Se analisarmos a estequiometria da reação da redução de sulfato com a presença de lactato como fonte de carbono, considerada aqui como principal, e o número de mols reagidos de sulfato com o número de mols produzidos de acetato, relata-se um excedente de acetato nas situações em que a remoção de sulfato não passou dos 58%. A partir desse momento, a redução aumentou gradativamente até se atingir os 90% na repetitividade, acompanhado de uma diminuição na produção de acetato e um subsequente aumento. Com relação ao excesso de acetato, num primeiro momento, podemos citar a ocorrência simultânea de outras rotas metabólicas como a acetogênese, que, por sua, apresenta o ânion do ácido acético como um dos produtos reacionais. Por outro lado, a falta de mols de acetato, considerando a relação 1:2, sugere o consumo dessa molécula em alguma outra via bioquímica ou o consumo de sulfato também por diferentes vias, diminuindo a possibilidade da rota com lactato ser a principal.

### 5.2.2.1 Perfis temporais e modelagem cinética

O comportamento do perfil reacional, representado pela média dos ensaios em triplicata, encontra-se na Figura 27 e auxilia no entendimento dos fenômenos bioquímicos decorrentes no AnSBBR, ainda mais, se o modelo ajustado se distanciar pouco das medidas experimentais.

Figura 27 - Espécies químicas ao longo do perfil da fase de Adaptação

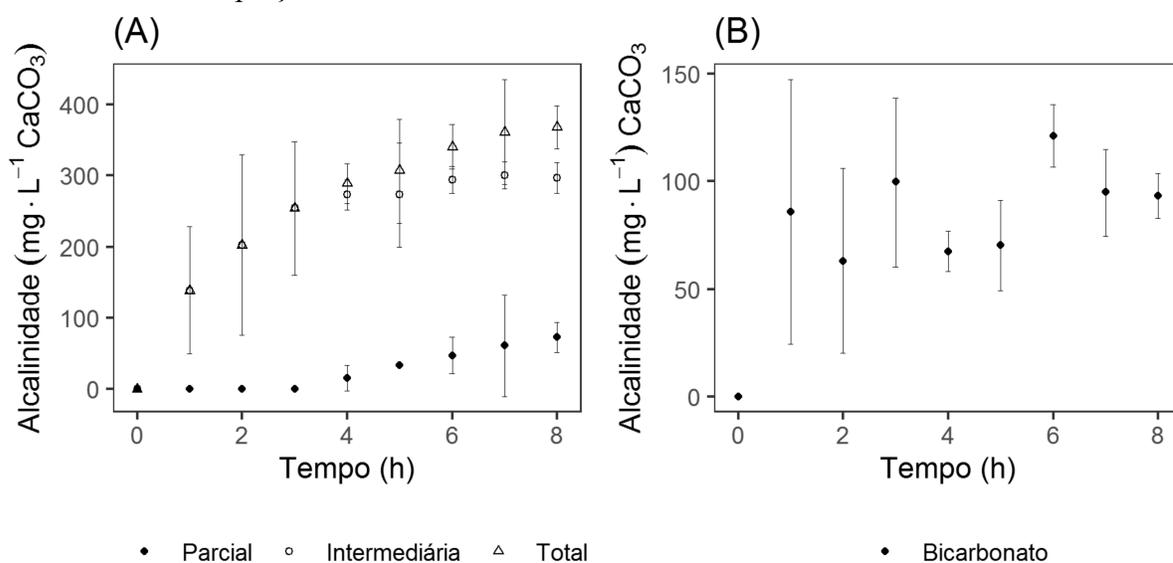


Fonte: Do autor.

Da mesma forma como relatado na seção 6.2, fica evidente, a partir da Figura 27, que o reator se estabelece, em sua maior parte, como sulfetogênico. Percebam como a produção de sulfetos e de acetato acompanha o consumo de sulfato, formando um comportamento espelhado entre as distribuições. Com isso, pode-se dizer que a quantidade de sulfato reagida é proporcional à quantidade de sulfeto e de acetato produzidas, criando uma relação de dependência entre as espécies, como já se esperava. Observem também que ao se aproximar do final do ciclo, o comportamento de todas as espécies tende pra um comportamento linear, indicando uma possível estabilidade de consumo ou produção em apenas 8 horas de operação.

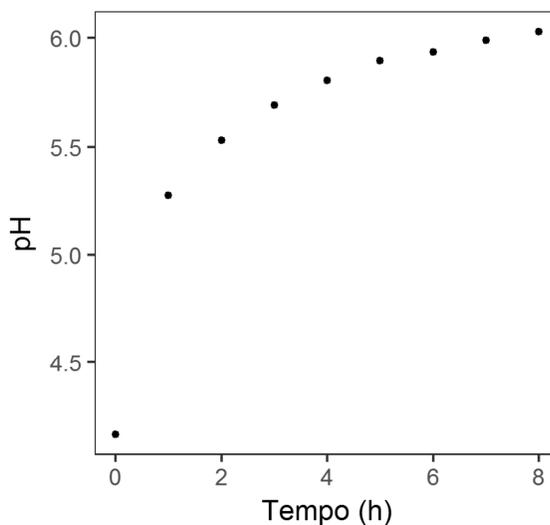
Outro aspecto interessante que aponta para uma superior atividade das BRS incompletas com relação às arqueias metanogênicas acetoclásticas e BRS completas é o acúmulo de acetato durante o perfil (perto do fim, a distribuição dessa espécie química também dá sinais de constância, assim como o sulfato). Esse aumento na concentração de acetato, juntamente com a produção de sulfetos dissolvidos refletem na pequena variação de DQO a partir da 1ª hora de reação. Esses fenômenos influenciam diretamente na geração de alcalinidade do meio reacional e, conseqüentemente, no aumento do pH como é visto nas Figuras 28 e 29:

Figura 28 - Alcalinidade medida (A) e alcalinidade à bicarbonato (B) obtidas no perfil da fase de Adaptação



Fonte: Do autor.

Figura 29 - Variação do pH ao longo do perfil temporal da fase de Adaptação



Fonte: Do autor.

Dentre as alternativas existentes para verificar a predominância de determinada espécie no consórcio microbiano do reator, as análises de biologia molecular são as mais confiáveis. Faz-se uma análise do lodo antes do inóculo para determinação da distribuição das espécies e, posteriormente, à medida em que se troca de fase, repete-se o procedimento de modo a observar quais espécies mais se destacam dadas as condições físico-químicas do meio reacional.

Nesse trabalho, como faltaram recursos para desenvolver essas análises biomoleculares, optou-se por criar um modelo e atentar-se aos parâmetros cinéticos que apresentarem maior significância estatística. Aqueles de maior importância serão adotados como indicadores de rotas possíveis no AnSBBR, já que cada constante cinética está vinculada a uma via metabólica. Em primeiro momento, todos os parâmetros das Eq. 26, 27 e 28 foram incluídos no modelo. Porém, como já foi dito, o acetato se acumula ao longo do ciclo, sugerindo consumo nulo ou extremamente pequeno dessa espécie. Isso nos leva a hipótese de que as rotas metabólicas da sulfetogênese do tipo completa a partir do acetato e da metanogênese são praticamente inacessíveis, tornando as constantes  $k_4$  e  $k_5$  negligenciáveis para o modelo. Essa hipótese se concretiza ao tentar o ajuste com todas as constantes, tornando o modelo precário para descrição dos dados, pois nenhum parâmetro apresenta significância superior a 95%. Logo, a medida de correção tomada foi a retirada dessas duas constantes do modelo I (Eq. 26, 27, 28), implicando na consideração de que nem sulfetogênese por acetato nem metanogênese estão presentes. Refazendo o ajuste não linear, encontraram-se os parâmetros cinéticos:

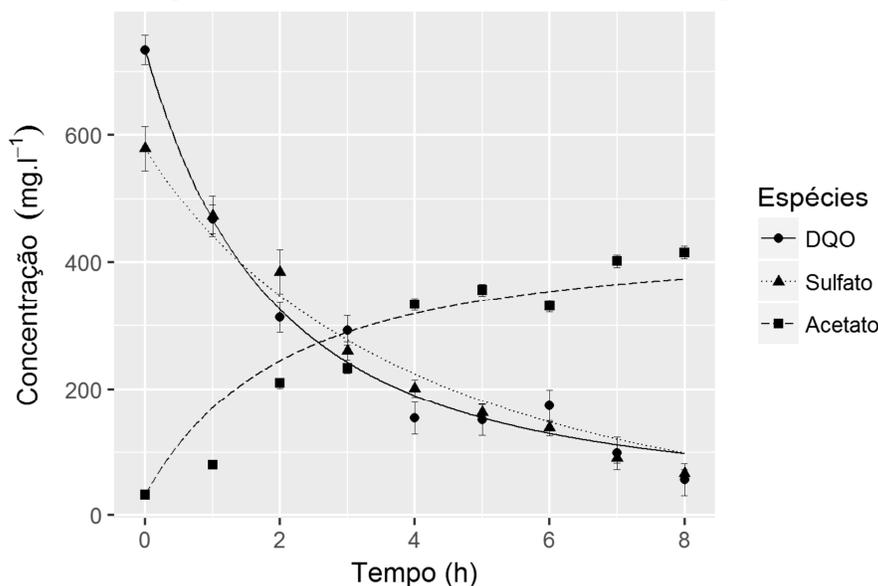
Tabela 12 - Estimativa dos parâmetros do modelo I ajustado aos dados dos perfis temporais das espécies  $DQO_{MO}$ ,  $SO_4^{2-}$  e Acetato para a fase de Adaptação

Parâmetros	Rotas	Estimativa $\pm$ Erro padrão	p-valor
$k_1$ ( $h^{-1}$ )	Hidrólise/Acidogênese/Acetogênese	$(4 \cdot 10^{-2} \pm 1 \cdot 10^{-2})$	0,01
$k_2$ ( $L \cdot mg^{-1} \cdot h^{-1}$ )	Sulfetogênese Incompleta	$(4 \cdot 10^{-4} \pm 3 \cdot 10^{-5})$	0,001
$k_3$ ( $L \cdot mg^{-1} \cdot h^{-1}$ )	Sulfetogênese completa por $MO_{CL}$	$(4 \cdot 10^{-4} \pm 4 \cdot 10^{-5})$	0,001

Fonte: Do autor.

O comportamento teórico das espécies foi determinado a partir das estimativas ajustadas, nos levando a Figura 30:

Figura 30 - Comportamento experimental e comportamento teórico predito pelo modelo I das espécies DQO<sub>MO</sub>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> e Acetato durante o perfil da fase de Adaptação



Fonte: Do autor.

Do modelo, pode-se registrar que, além da atividade das BRS incompletas, destacam-se as fermentativas, incluindo as acidogênicas e acetogênicas, e as BRS completas, consumidoras da matéria orgânica que ainda não se tornou acetato. Pela significância estatística e valor da estimativa, ambos aproximados, esses dois tipos de BRS devem contribuir de maneira igualitária para o consumo de sulfato dentro do AnSBBR, e também, para o consumo de DQO em forma de matéria orgânica. Não menos importante, apesar de um p-valor maior, a presença do parâmetro  $k_1$  ao modelo explica o consumo mais acentuado de DQO, uma vez que as fermentativas (acidogênicas e acetogênicas) devem atuar como “fornecedoras” de moléculas orgânicas para as outras espécies, num conjunto de reações que deve acontecer de forma simultânea e também, sequencial. A estimativa desse último parâmetro é cerca de 100 vezes maior que os parâmetros da sulfetogênese. Como já se sabe, essa cinética mais acelerada pode ser explicada pelo fato das bactérias fermentativas atuarem no processo de oxidação de fontes de carbono com maior cadeia polimérica, sendo abastecidas por um fluxo de elétrons maior, que, conseqüentemente, garante maior geração de moléculas energéticas aproveitadas no desenvolvimento celular, além de mais carbono disponível para a criação de novas células. Parâmetros cinéticos com esses mesmos valores foram reportados em Silva (2005) e Couto (2017), os quais também trabalharam com águas residuárias contendo quantias significativas de sulfato.

### 5.2.3 Condição A

A média, com intervalo de confiança de 95%, dos principais parâmetros monitorados ao longo da condição A, caracterizada por apresentar uma carga aplicada teórica de  $1,5 \text{ gSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$ , está mostrada na Tabela 13. Ressaltando que a média das análises foi computada desconsiderando os dados de perfis, pois todas as espécies químicas eram diluídas ao adentrarem o reator, gerando concentrações menores quando comparadas com as concentrações da DASM preparada. Portanto, as concentrações de entrada, avaliadas na situação de “estabilização”, foram adotadas como referência no cálculo de parâmetros como carga removida e eficiência de remoção, e não, as concentrações de início de ciclo, mantendo-se uma maior compatibilidade com os parâmetros pré-estabelecidos no início do projeto. Dessa forma, alguns distanciamentos do comportamento teórico esperado ao aplicar estratégias de alimentação diferentes também podem ser explicados por mudanças nesse fator de diluição.

Tabela 13 - Variáveis monitoradas ao longo da condição A

Parâmetros	I-A	II-A	III-A
COA ( $\text{mgDQO} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$ )	$3,04 \pm 0,17^{(5)}$	$2,3 \pm 0,06^{(5)}$	$2,14 \pm 0,14^{(5)}$
COR ( $\text{mgDQO} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$ )	$1,82 \pm 0,80$	$1,23 \pm 0,06$	$1,12 \pm 0,06$
$\epsilon_{\text{DQO}}$ (%)	$61 \pm 2$	$54 \pm 3$	$52 \pm 3$
CSA ( $\text{mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$ )	$1,9 \pm 0,6^{(5)}$	$1,28 \pm 0,08^{(6)}$	$1,23 \pm 0,09^{(5)}$
CSR ( $\text{mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$ )	$1,8 \pm 0,3$	$1,15 \pm 0,08$	$0,96 \pm 0,09$
$\epsilon_{\text{SO}_4^{2-}}$ (%)	$97 \pm 1$	$88 \pm 7$	$77 \pm 3$
pH <sub>entrada</sub>	$3,2^{(4)}$	$3,23^{(6)}$	$3,18^{(5)}$
pH <sub>final</sub>	$5,52$	$5,28$	$5,1$
STD <sub>não filtrada</sub> ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$60 \pm 14^{(5)}$	$56 \pm 5^{(6)}$	$62 \pm 9^{(4)}$
STD <sub>filtrada</sub> ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$45 \pm 9$	$43 \pm 7$	$42 \pm 8$
Alcalinidade <sub>total</sub> ( $\text{mgCaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ )	$221 \pm 10^{(5)}$	$198 \pm 13^{(6)}$	$162 \pm 30^{(4)}$

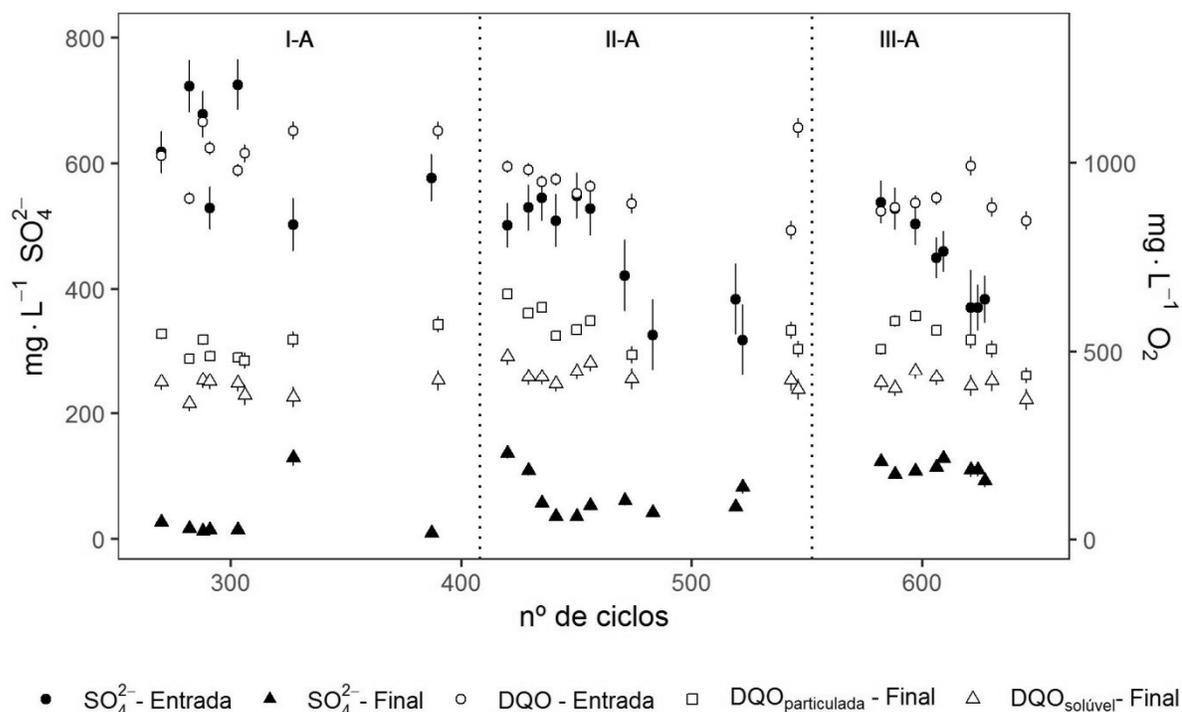
Fonte: Do autor.

Nota: \*Os números entre parênteses indicam a quantidade de triplicatas feitas para obtenção dos parâmetros médios medidos e calculados. Subentende-se que o número de amostras analisadas no final do ciclo é o mesmo que o número de amostras analisadas para a obtenção dos parâmetros de entrada.

Analisando a Tabela 13, relata-se que, dentre as três estratégias de alimentação adotadas, a estratégia de batelada apresentou a maior eficiência na remoção de  $\text{SO}_4^{2-}$ , resultando na eliminação de praticamente toda quantidade mássica dessa molécula existente no meio de entrada. Vinculado a isso, pode-se dizer que as condições bioquímicas nessa situação, favoreceram um maior consumo de moléculas orgânicas na rota da sulfetogênese,

fenômeno comprovado pela maior eficiência na remoção de DQO. Por outro lado, com relação às estratégias de batelada alimentada, acredita-se, em primeiro momento, que algum mecanismo inibitório, seja bioquímico ou relativo às condições hidrodinâmicas do reator, tenha diminuído a atividade das BRS, acarretando nas quedas gradativas de eficiência de remoção, tanto de sulfato quanto, conseqüentemente, de DQO. A Figura 31 relata o comportamento desses parâmetros monitorados ao longo da condição A:

Figura 31 - Variação da DQO e das concentrações de  $\text{SO}_4^{2-}$  em cada fase da condição A

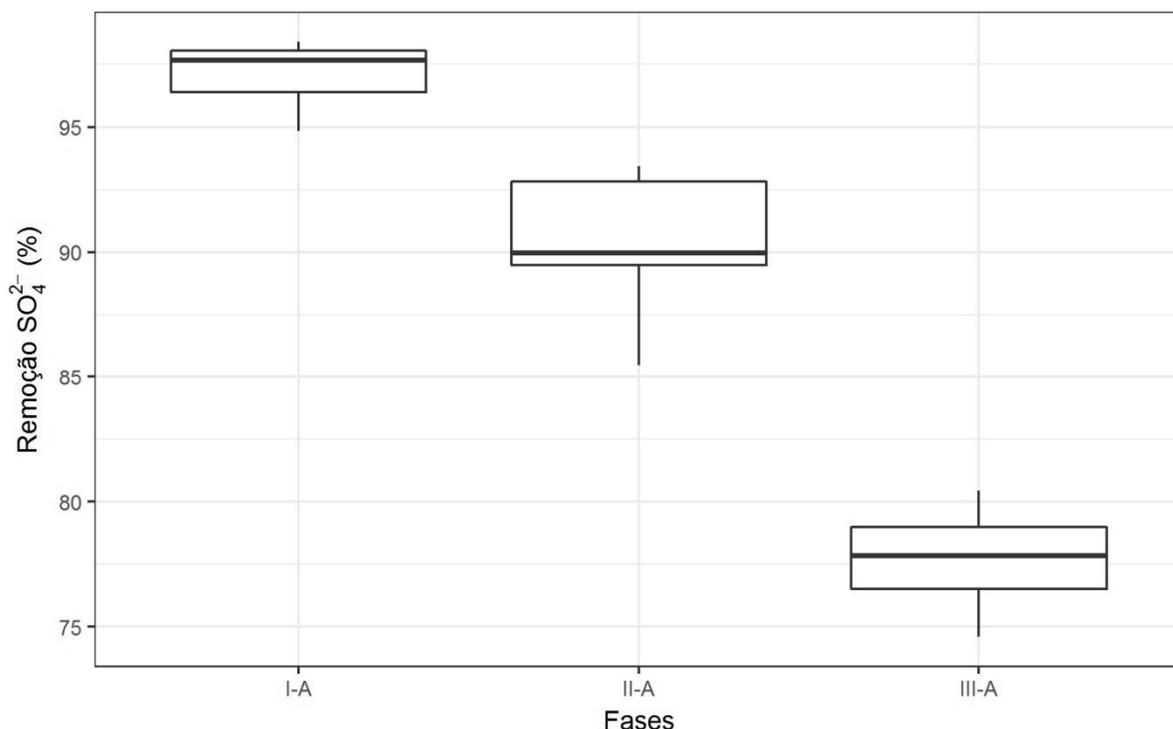


Fonte: Do autor.

A aplicação do teste ANOVA, respeitando todas as suas premissas, reforça com significância estatística de 95%, a existência da diferença de remoção de sulfato entre todas as fases na condição A, haja vista, o p-valor obtido de  $10^{-6}$ , que refuta a hipótese nula, de todas as médias de remoção serem iguais. Ao aplicar o teste de Tukey-Kramer, válidos para fases com variados números amostrais em cada fator, fica evidente que, estatisticamente, todas as fases são diferentes, com p-valores da comparação bem menores que  $\alpha$  de 0,05. Desse modo, isso coloca a fase de batelada como a melhor forma de tratar a DASM na condição A, além de enfatizar a existência de um fenômeno prejudicial acumulativo à sulfetogênese, refletindo menores eficiências para os maiores tempo de alimentação. A Figura 32 mostra a variabilidade das remoções, deixando visível o resultado dos testes, ou seja, o distanciamento das dispersões dos valores de remoção entre todas as fases, e a exclusão da fase I-A como

preponderante na remoção de sulfato. A presença do outlier na fase II-A deve estar relacionada ao erro de calibração da bomba pra completar o volume total em 2 horas de alimentação, carregando o reator, nesse momento, com um volume maior do que o planejado.

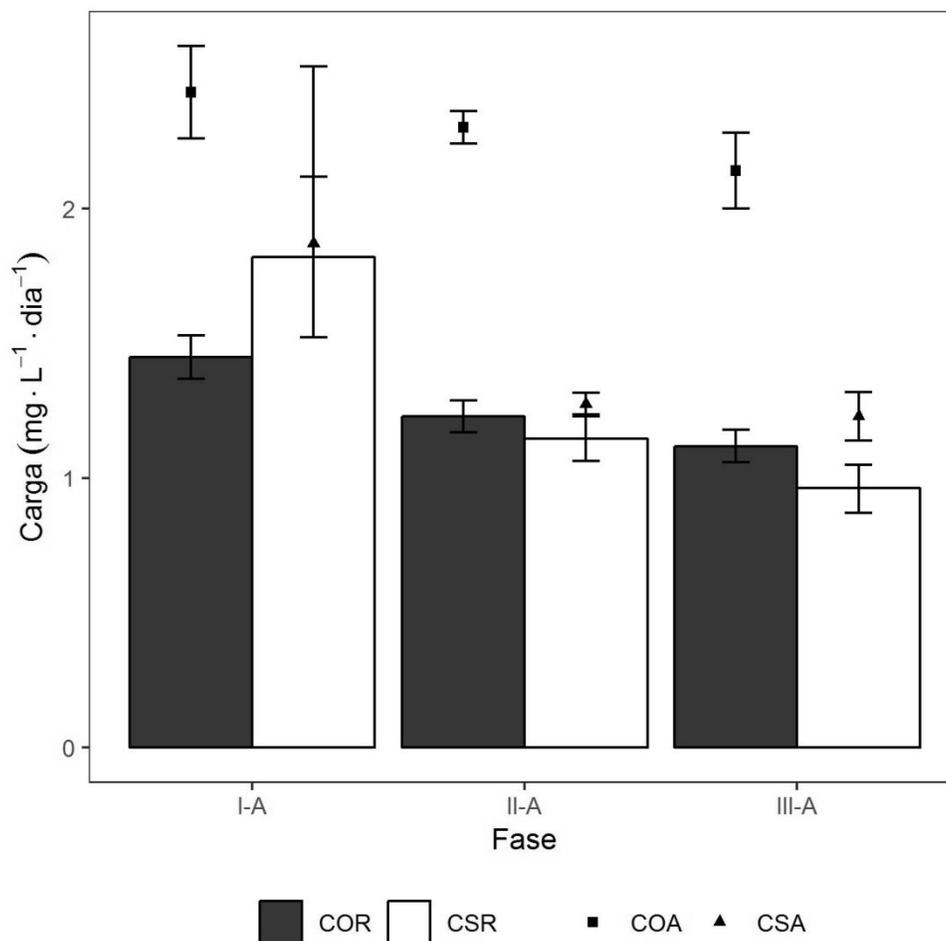
Figura 32 - Boxplot para remoção de  $\text{SO}_4^{2-}$  em cada fase da condição A



Fonte: Do autor.

A fim de reafirmar a consolidação do reator como sulfetogênico na fase I-A, a Figura 33 mostra a relação entre as cargas aplicadas e removidas de substratos ao longo da condição aqui estudada. A maior dispersão na carga aplicada de  $\text{SO}_4^{2-}$  na fase I-A pode estar atribuída à dificuldade em se quantificar essa molécula pelo método turbidométrico a partir do momento em que se adicionou  $\text{Fe}^{2+}$  na DASM, assunto que será discutido na seção 5.4.3.1. Ressaltando ainda que o volume alimentado, nas fases II-A e III-A, correspondeu a 80% do volume reacional, e por isso, a carga aplicada, tanto para DQO quanto para  $\text{SO}_4^{2-}$ , é aproximadamente 80% menor que a carga teórica. Uma maior remoção de DQO na fase I-A, visto as menores DQOs filtradas de final de ciclo quando comparada à fase preliminar, pode sugerir uma participação de BRS completas na redução do  $\text{SO}_4^{2-}$ , convertendo o acetato excedente, oriundo da sulfetogênese incompleta, em bicarbonato e sulfeto.

Figura 33 - COA, CSA, COR e CSR em cada fase da condição A



Fonte: Do autor.

Ainda analisando a Figura 33, é possível notar, para a fase II-A, que a queda na CSR é acompanhada pela queda na COR, como esperado, já que o consumo de sulfato foi realmente menor nessa situação. Pela primeira vez, durante toda a operação, a CSR ficou abaixo da COR, dando indícios de um aproveitamento, mesmo que pequeno, menor dos elétrons oriundos da matéria orgânica disponível da acidogênese pela sulfetogênese, como relatado na fase preliminar, o que também explicaria a queda de  $(98 \pm 1)\%$  para  $(88 \pm 7)\%$  na eficiência de remoção de  $\text{SO}_4^{2-}$ . Porém, apesar dessa alteração no direcionamento de moléculas orgânicas para as rotas metabólicas existentes, o reator ainda permaneceu como sulfetogênico, visto à maior concentração de eficiências de remoção acima de 90% no Boxplot da Figura 32.

Continuando na Figura 33 e atentando-se à fase III-A, percebe-se que a razão entre CSR e COR foi ainda menor. Portanto, ao comparar as CORs médias entre as fases de alimentação gradativa (II-A e III-A), relatam-se diferentes consumos médios de  $\text{SO}_4^{2-}$  para o mesmo consumo de matéria orgânica. Embora estejam visualmente distantes, a flutuação das médias de COR garante semelhança estatística ao considerar um intervalo de confiança de

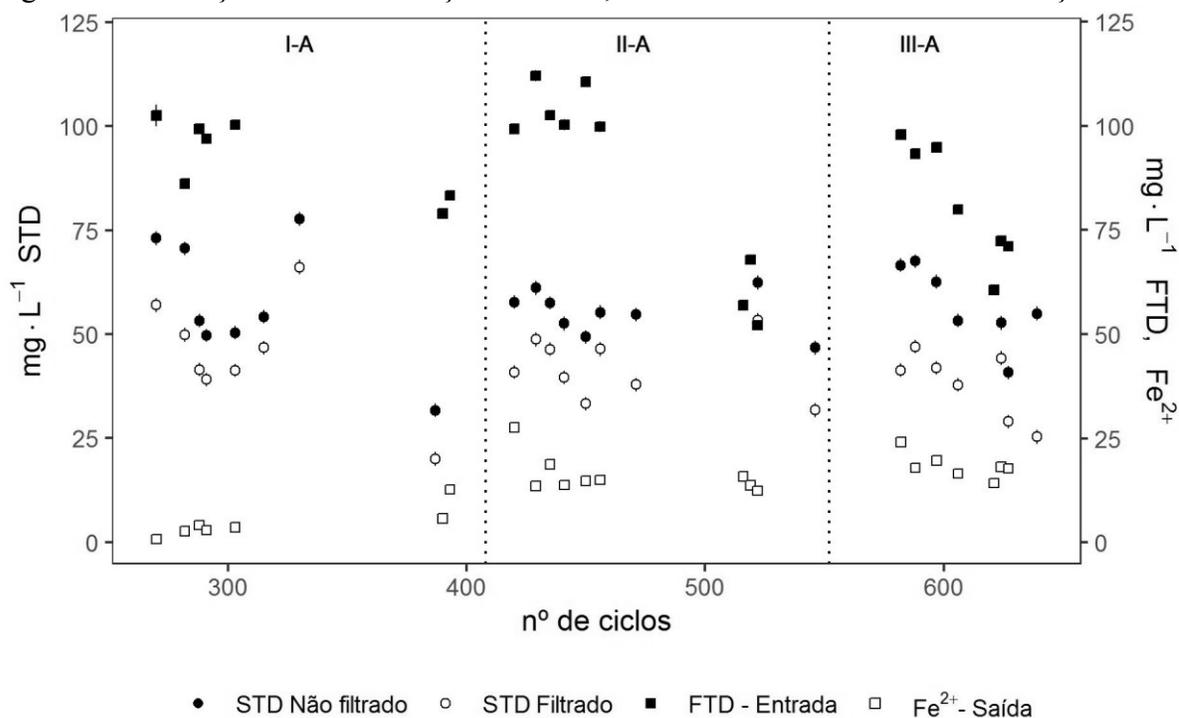
95%. Dessa forma, a hipótese de adaptação de outros microrganismos que possuíam a capacidade de competir pelo substrato com as espécies de BRS anteriormente dominantes ganha importância nesse cenário, destacando-se, por exemplo, a possibilidade da atividade de arqueias metanogênicas acetotróficas, referidas a partir de agora como AMA, no consórcio microbiano.

A partir da Tabela 13 fica evidente também uma queda na produção de sulfeto de aproximadamente 50% se comparada com a fase preliminar, em que se atingiu valores de 90 mg STD.L<sup>-1</sup> para amostras filtradas. Isso é incoerente se a remoção de sulfato for analisada separadamente porque, teoricamente, quanto maior a quantidade removida de sulfato, maior deve ser a quantidade produzida de sulfeto. E, as remoções variaram, naquela situação, entre 85% e 90% quando o sistema apresentou sinais de estabilidade, menores que os 98% alcançados na condição I-A. Portanto, essa queda abrupta na concentração final de STD, relatada na transição das fases de adaptação para a I-A, só pode estar relacionada com a presença do íon ferroso em solução, já que, dependendo das condições físico-químicas do meio, as moléculas de sulfeto reagem com o Fe<sup>2+</sup>, formando precipitados metálicos. Outro fator que explica a ocorrência da formação do sulfeto de ferro é a ligeira diminuição do pH, também relatada na transição. Como o bicarbonato é produto da rota sulfetogênica, esperava-se maior elevação do pH do meio, nas situações de maior consumo de sulfato, como é o caso da fase I-A. Porém, como relatado em Liu et al. (2017) existe uma liberação de prótons H<sup>+</sup> quando o sulfeto de ferro é precipitado, ainda mais quando há maior predominância da espécie não ionizada de STD, o H<sub>2</sub>S. Enquanto, na abundância de HS<sup>-</sup>, a formação do precipitado metálico libera um mol do próton H<sup>+</sup>, essa quantidade é dobrada para as reações que ocorrem em pHs bem menores que o pKa dessa espécie (no nosso caso, em torno de 5,5). Um fato que pode comprovar a formação do precipitado é a maior turbidez das amostras de final de ciclo após a adição de Fe<sup>2+</sup> no meio de entrada.

Da Figura 34, outro fato interessante é verificar a concentração média final de sulfeto em cada estratégia de alimentação na fase I-A, e, como a concentração final de ciclo do Fe<sup>2+</sup> aumenta junto com o aumento do tempo de alimentação, semelhante ao comportamento do SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> final. A aplicação da ANOVA de um fator nas concentrações médias de STD filtrada final garante que todas as estratégias de alimentação, estatisticamente, são iguais nesse quesito, visto o p-valor de 0,45, que corrobora a hipótese nula. Porém, como o processo é realizado em bateladas sequenciais, o volume residual mantido no reator ao se realizar o descarte garante a permanência de moléculas de sulfeto no início de cada ciclo, tornando a concentração inicial dessa molécula diferente de zero. Enquanto na fase I-A, o volume

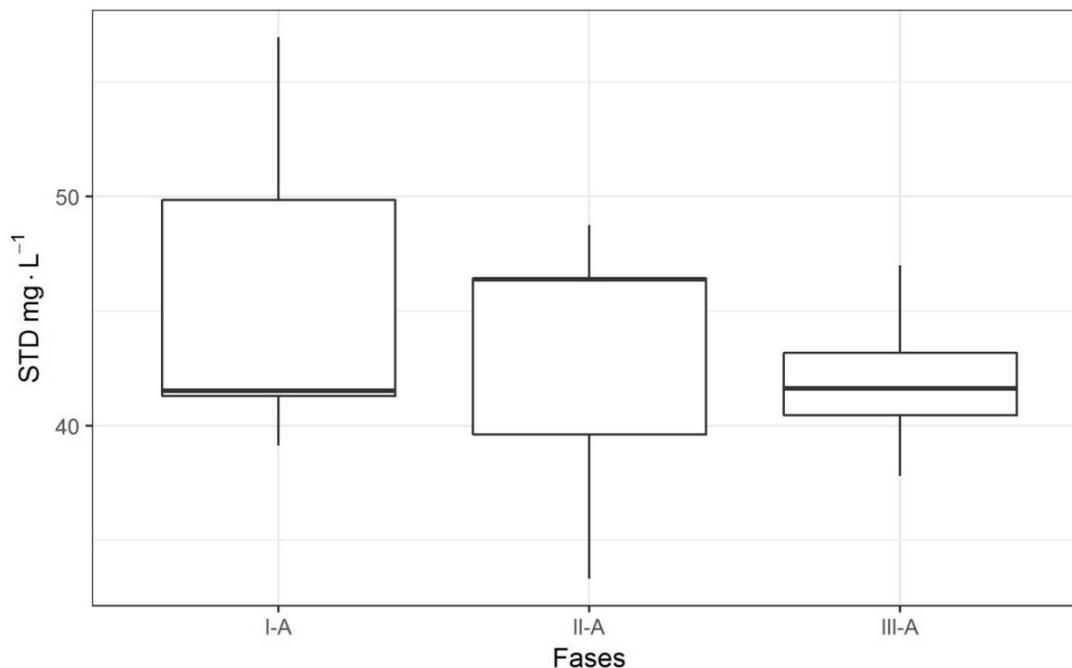
alimentado de 2,8 litros, ausente de sulfeto, provocou um maior efeito de diluição do meio residual, fornecendo concentrações iniciais de  $\text{H}_2\text{S}$  próximas a  $(2\pm 2) \text{ mgSTD.L}^{-1}$ , para as fases II-A e III-A, maiores concentrações de sulfeto permaneceram no início de cada ciclo,  $(13\pm 2) \text{ mgSTD.L}^{-1}$  e  $(15\pm 2) \text{ mgSTD.L}^{-1}$ , respectivamente. Isso porque, como a quantidade alimentada nos primeiros 10 minutos é quase 50% menor que na fase em batelada, gerou-se um efeito de diluição de menor intensidade. Sendo assim, apesar das concentrações médias serem iguais no final do ciclo, como visto na Figura 35, a produção líquida de sulfeto deve ter decaído à medida que se aumentou o tempo enchimento, fato mais compatível com a atenuação no consumo de sulfato observada.

Figura 34 - Variação das concentrações de FTD,  $\text{Fe}^{2+}$  e STD em cada fase da condição A



Fonte: Do autor.

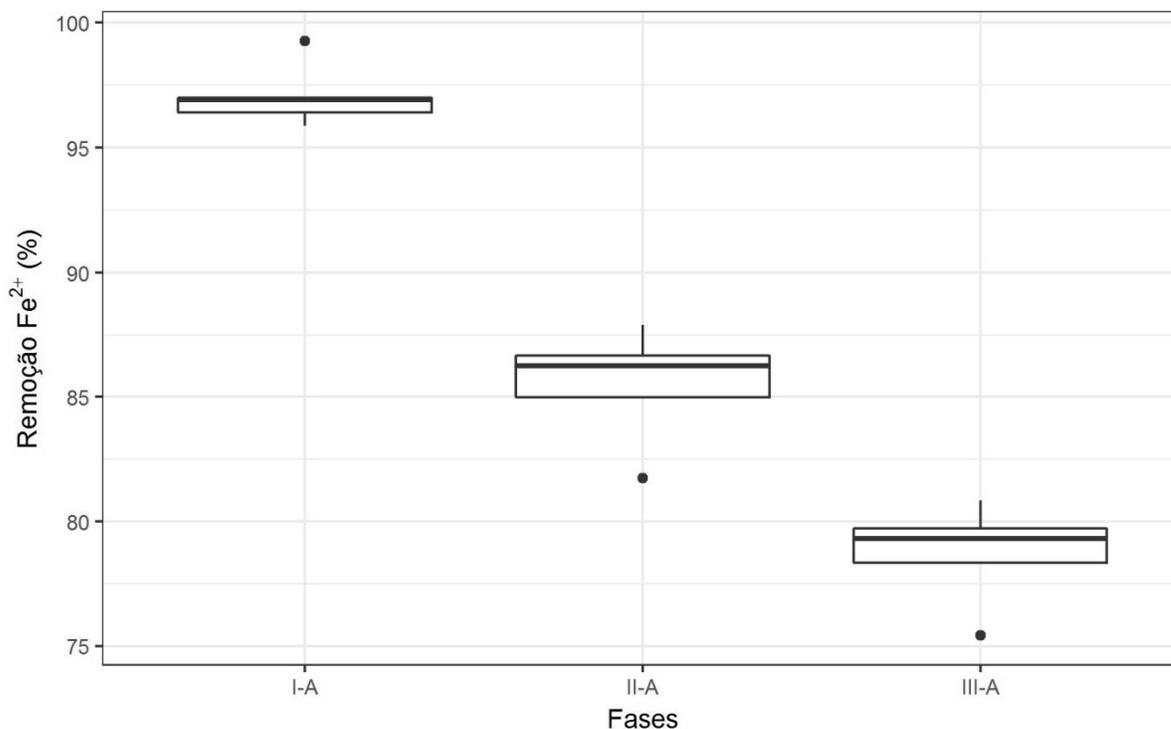
Figura 35 - Boxplot das concentrações de sulfeto ao fim do ciclo em cada fase da condição A



Fonte: Do autor.

Ao submeter às remoções de ferro ao mesmo teste ANOVA, o p-valor obtido é menor que o nível de significância adotado de 5%, alegando que, pelo menos uma das estratégias de alimentação gera um consumo com diferença significativa. Ao aplicar o teste de Tukey-Kramer, as comparações entre todas as fases geram p-valores menores que o nível de significância, demonstrando que a remoção de ferro se dá de maneira diferente em cada uma. Esses indícios sugerem, mais uma vez, que a estratégia em batelada se mostra mais eficiente na remoção de  $\text{SO}_4^{2-}$ , contribuindo para uma maior produção de sulfeto e conseqüentemente para um aumento na remoção de ferro por precipitação. A Figura 36 mostra o Boxplot das concentrações de  $\text{Fe}^{2+}$  no final do ciclo para cada fase da condição A:

Figura 36 - Boxplot para a remoção de  $\text{Fe}^{2+}$  em cada fase da condição A



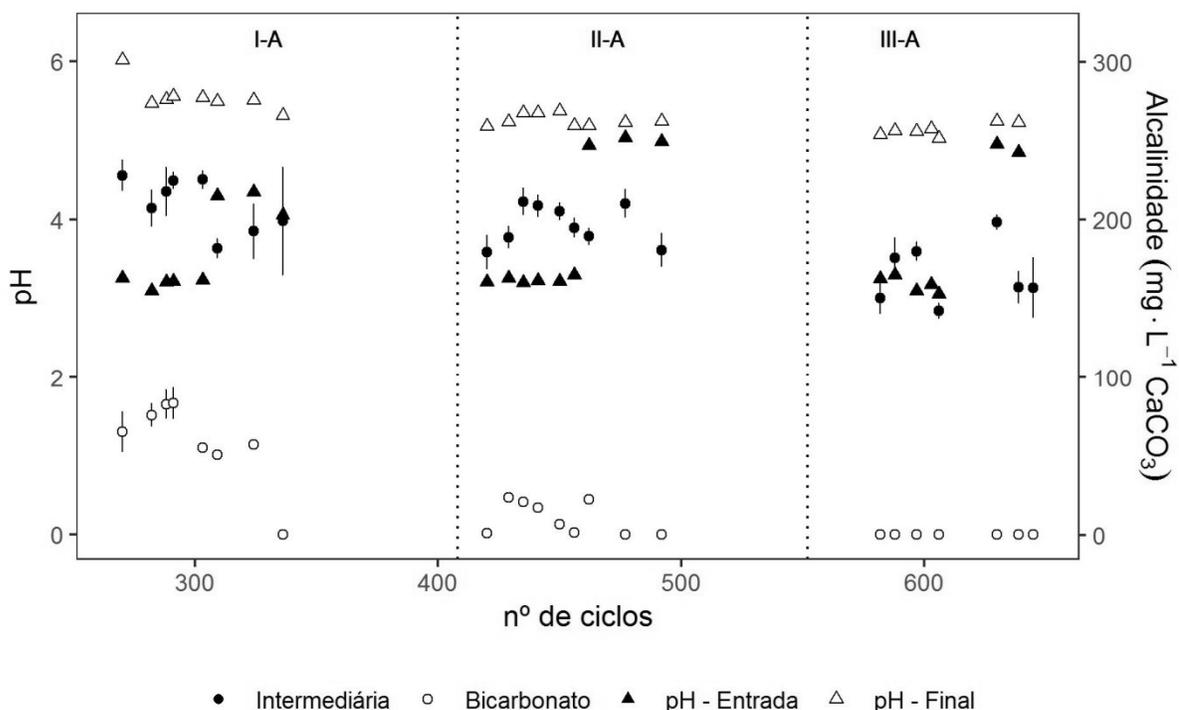
Fonte: Do autor.

É claro que, além da precipitação dos sulfetos metálicos, existem outros mecanismos atuantes na retirada dos íons ferrosos da fase aquosa. Dentre eles, podemos citar: a utilização do  $\text{Fe}^{2+}$  como micronutriente pelos microorganismos, quando o metal se encontra complexado por um quelante, e, uma possível adsorção das espécies de ferro no material suporte ou no lodo ali imobilizado. Se esta última opção for verdadeira, é possível que o perfil do íon ferroso na fase aquosa se diferencie da exponencial decrescente representada pela reação de precipitação do sulfeto ferroso amorfo. A predominância de mecanismos na remoção de ferro será abordada mais detalhadamente na seção dos perfis temporais.

A Figura 37 também retrata uma ligeira queda no pH à medida em que se aumentou o tempo de alimentação. Como dito, muito provavelmente, esse comportamento se relaciona com a diminuição da carga removida de sulfato ao se variar as fases, e, conseqüentemente, com uma menor produção de alcalinidade, já que, pras condições estudadas, a sulfetogênese deveria ser, possivelmente, a única rota acessada capaz de produzir moléculas de bicarbonato. Pela análise das concentrações de alcalinidade a bicarbonato, têm-se uma reiteração dessa afirmação, isto é, para as maiores eficiências na remoção de sulfato, maior a concentração final de bicarbonato acumulado no sistema. Este parâmetro variou entre  $(55 \pm 2) \text{ mgCaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$  e  $(84 \pm 10) \text{ mgCaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$  na fase I-A e decaiu drasticamente na fase II-A. O valor máximo de alcalinidade a bicarbonato nesta última fase foi alcançado no começo da operação,  $(24 \pm 2)$

$\text{mgCaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$ , sendo reportado uma diminuição gradativa na concentração dessa molécula a medida em que os ciclos ocorriam, com valores próximos de zero no final da fase. Já para a situação III-A, com maior atenuação da atividade das BRS, só se relatou valores nulos de alcalinidade a bicarbonato. Isso é um forte indício de que, pra essas duas últimas condições, ocorreu um maior acúmulo de ácidos no sistema, possivelmente pelo fato de surgir uma competição mais agressiva por substrato entre as BRS e acetogênicas presentes no reator.

Figura 37 - Variação da alcalinidade ao final do ciclo e do pH em cada fase da condição A



Fonte: Do autor.

Antes dos perfis, a concentração de entrada e a carga aplicada de sulfato, especificamente na fase I-A, merecem uma atenção especial.

### 5.2.3.1 Interferência na análise de $\text{SO}_4^{2-}$

Pela Tabela 13 e pela Figura 31 (concentrações indo de  $618\pm 33 \text{ mg SO}_4^{2-}\cdot\text{L}^{-1}$  a  $725\pm 40 \text{ mg SO}_4^{2-}\cdot\text{L}^{-1}$ ), fica evidente que a carga aplicada de sulfato desvia em 33% para mais da carga aplicada teórica de  $1,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{dia}$ , observadas na fase II-A e III-A. Portanto, a priori, poderíamos afirmar que os sais de sulfato foram pesados em excesso no preparo da DASM. Entretanto, ao longo da operação, os mesmos procedimentos foram adotados para confecção do meio, inclusive na fase de adaptação, em que as concentrações de sulfato se encontravam

dentro da faixa esperada e o íon ferroso ainda não havia sido adicionado. Com isso, cria-se uma hipótese de alterações na análise turbidimétrica de sulfato, quando uma matriz orgânica complexa e ferro (II) estiverem presentes numa proporção específica. Comportamento semelhante foi relatado ao trabalhar nas mesmas condições de carga e relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (PEREIRA, 2017).

Proteínas e alguns aminoácidos do soro de leite (alfa-lactoalbumina e a beta-lactoglobulina) são capazes de formar complexos na presença de metais de transição, como o ferro, seja na forma Fe<sup>2+</sup> ou Fe<sup>3+</sup>, podendo, dessa forma, aumentar a biodisponibilidade do elemento nas reações metabólicas. Trabalhos verificando o potencial daquelas moléculas peptídicas na complexação do ferro, em diferentes condições, geralmente, relatam a capacidade dessas estruturas em interagirem com a luz, quando excitadas. Alguns complexos são capazes de absorver, enquanto outros podem emitir radiação em comprimentos de ondas específicos (SILVA et al., 2017). Logo, supõe-se que a interferência causada na quantificação do sulfato foi causada pela presença de complexos formados pelas proteínas do soro e do ferro solúvel no meio. Em outros trabalhos, utilizando moléculas orgânicas mais simples no tratamento de DASM, esse efeito não foi retratado, sendo que para Araújo (2017), o reator UASB entrou lentamente em colapso após adicionar 100 mg.L<sup>-1</sup> de Fe<sup>2+</sup> à água residuária sintética preparada com etanol (ARAÚJO, 2017; CUNHA, 2015; MARTINS et al., 2015). Todavia, Pereira (2017), ao operar um UASB em escala de bancada, conseguiu aumentar a remoção de sulfato e DQO, (76±5)% e (74±12)%, respectivamente, ao adicionar Fe<sup>2+</sup> à DASM contendo soro de leite como fonte de carbono e micronutrientes.

Para realçar o efeito positivo do soro no processo, pode-se citar o rápido aumento na remoção de sulfato (8% em três ciclos) após adicionar o sal de ferro na DASM, indicando que os complexos podem mesmo tornar o ferro, além de mais estável, também mais biodisponível e eliminar o efeito nocivo causado por esse metal nas concentrações estudadas quando disposto na forma livre. Em alguns momentos da condição A, as análises de ferro das amostras de entrada foram realizadas sem a adição de hidroxilamina, quantificando apenas o Fe<sup>2+</sup>, com o objetivo de comparação com a concentração de FTD na mesma amostra:

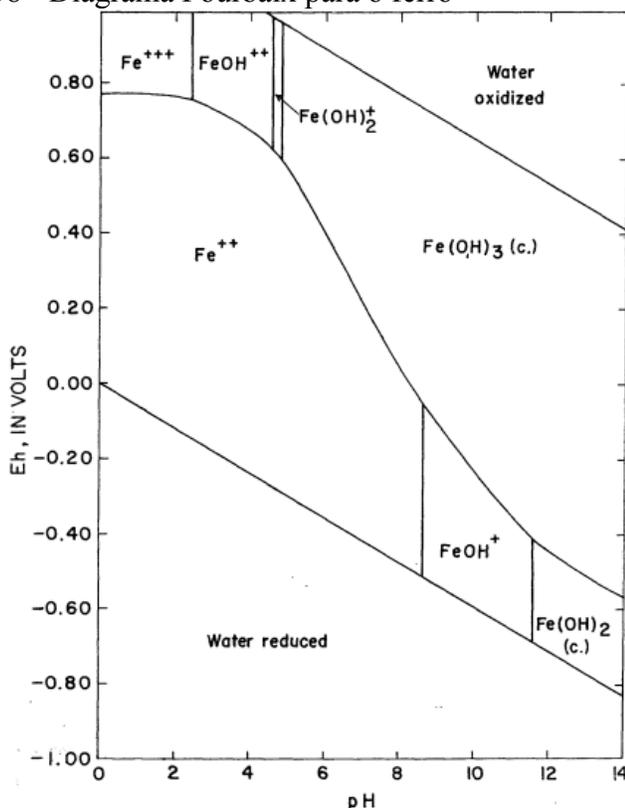
Tabela 14 - Concentração de FTD e  $\text{Fe}^{2+}$  obtidas pelo método colorimétrico na condição A

Momento	FTD ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	$\text{Fe}^{2+}$ ( $\text{mg.L}^{-1}$ )
1	(99±6)	(34±6)
2	(117±4)	(52±4)
3	(100±4)	(15±4)
4	(101±4)	(32±4)

Fonte: Do autor.

Pelo método da fenantrolina, quantifica-se o FDT adicionando à amostra uma solução de hidroxilamina, agente redutor, responsável por converter todo  $\text{Fe}^{3+}$  presente em  $\text{Fe}^{2+}$ . Posteriormente, adiciona-se uma solução de acetato de sódio para manutenção do pH, seguida da adição de uma solução de fenantrolina, que reage com o íon ferroso formando um complexo capaz de ser quantificado via espectrofotometria, a ferroína (EATON et al., 2005). Sendo assim, teoricamente, a diferença entre as concentrações da Tabela 14 refere-se à concentração de  $\text{Fe}^{3+}$  na amostra, o que, de fato, é incoerente com a espécie predominante do metal predito pela Figura 38. Isso se considerarmos as características do meio de entrada, com pH variando entre 3,0 e 3,35, e também, potencial redox em torno de 255 mV. Portanto, pela Figura 38, o íon ferroso deve predominar nessas situações.

Figura 38 - Diagrama Pourbaix para o ferro



Fonte: Adaptado de U.S. Survey (1962).

Com isso, levanta-se a hipótese de que a diferença das concentrações medidas de ferro seja representada, em grande parte, pelos aminoácidos e proteínas do soro prendendo o íon ferroso no interior da molécula e formando o complexo estável e não quantificado pelo método. Esse é outro argumento plausível que pode ser usado na explicação da interferência nas análises de sulfato.

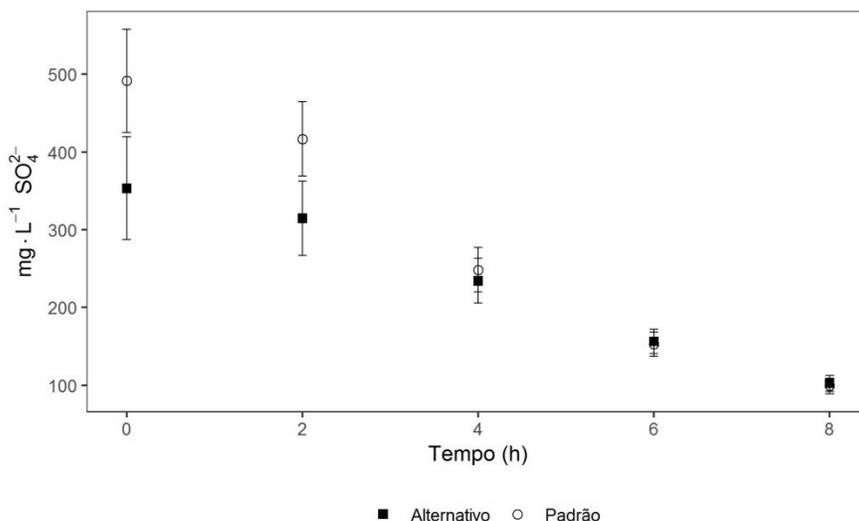
Na tentativa de corrigir esse problema, optou-se por adicionar 3 gotas de HCl 1M no preparo das amostras contendo a DASM de entrada para análise de sulfato, possibilitando, talvez, a substituição do íon  $\text{Fe}^{2+}$  complexado na estrutura dentada do quelato pelos prótons  $\text{H}^+$  liberados no meio (HARRIS, 2001). Shapiro (1966) e McMahon (1967) provaram que a acidificação de amostras provoca a liberação de íons  $\text{Fe}^{2+}$  complexados por matéria orgânica.

Essa técnica foi adotada a partir da fase II-A, e os resultados se mostraram satisfatórios como é relatado na Figura 31, já que os valores de sulfato de entrada se aproximam dos  $500 \text{ mg.L}^{-1}$ . Vale ressaltar também que nas amostras de saída, o efeito de acréscimo na análise de sulfato não foi percebido em nenhuma situação. Isso porque, no final do ciclo, estima-se que grande parte dos aminoácidos foi degradada na acidogênese e o ferro foi removido por algum mecanismo, encontrando-se em concentrações bem menores que as da entrada, suficiente pra não acarretar nenhum problema analítico.

O motivo de tentar extinguir a interferência é simples. A cinética real de consumo será mascarada caso as respostas inadequadas sejam utilizadas no momento do ajuste cinético. Se as moléculas orgânicas mais complexas são degradadas pelas bactérias fermentativas no começo do ciclo, a interferência dos complexos aminoácidos-ferro deve-se atenuar nas primeiras horas até deixar de existir quando todos os aminoácidos forem consumidos. Sendo assim, o perfil cinético de sulfato deverá ter, para os primeiros pontos, um comportamento de consumo mais acentuado, que se suavizará rapidamente em algum momento. A Figura 39 relata a diferença no comportamento de remoção do sulfato ao aplicar os dois métodos diferentes para as mesmas amostras coletadas durante um dos perfis da fase II-A. A partir da 4ª hora de ciclo, ou seja, duas horas depois do sistema começar a operar com o volume total de projeto, não existe diferença estatística entre as concentrações obtidas pelos dois métodos. Porém, o distanciamento das concentrações nas duas primeiras horas retrata a interferência causada pelos complexos de ferro, já que o volume residual reduziu a concentração de partida dos outros parâmetros, como mostrado na próxima seção. Dessa maneira, fica confirmado que o método padrão pode fornecer interpretações equivocadas sobre a velocidade de reação do

$\text{SO}_4^{2-}$  no começo do ciclo, influenciando diretamente o fechamento do balanço de massa e, conseqüentemente, as conclusões tiradas sobre o desempenho AnSBBR.

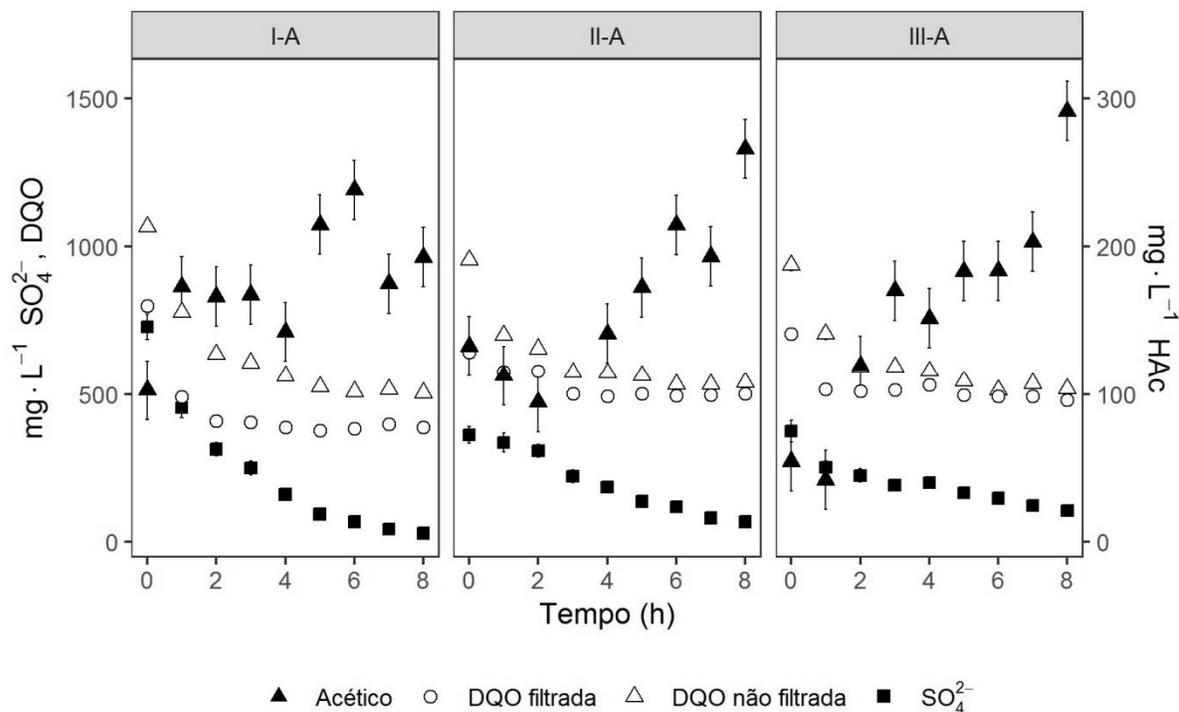
Figura 39 - Comparação entre o consumo do  $\text{SO}_4^{2-}$  de acordo com a aplicação de métodos diferentes



Fonte: Do autor.

### 5.2.3.2 Perfis temporais e modelagem cinética

Os perfis cinéticos completados na condição A em 9 dias de 8 horas de monitoramento para cada espécie química de interesse estão representados nas Figuras 40, 42 e 44. Relembrando que o comportamento aqui representado é o resultado da média das triplicatas feitas para cada parâmetro analisado. Na fase I-A, o perfil de sulfato foi feito pelo método tradicional, sem adição do ácido clorídrico para retirada da interferência, pois, até aquele momento, nenhuma alternativa tinha sido desenvolvida para contornar esse problema na análise. Na fase II-A, as análises de sulfato foram feitas tanto pelo método padrão quanto pelo método que faz uso do HCl, com o intuito de comparar a cinética de consumo nessas duas situações. Já na fase III-A, apenas o perfil com o método do ácido foi utilizado.

Figura 40 - Perfis temporais de  $\text{SO}_4^{2-}$ , DQO e  $\text{HA}_C$  para cada fase da condição A

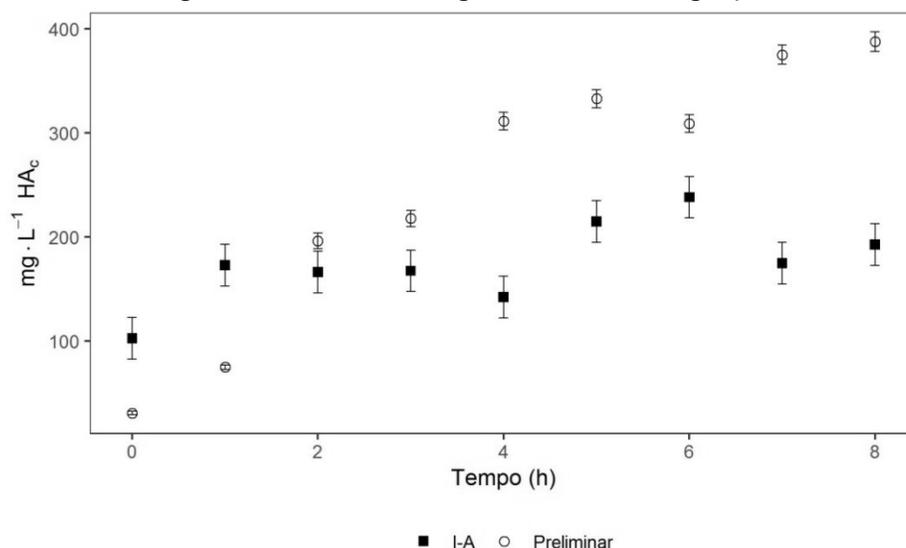
Fonte: Do autor.

Ao observar a Figura 40, fica nítido que, na fase I-A, a concentração média de sulfato no meio foi maior que a concentração teórica estabelecida, sendo equivalente a  $(739 \pm 43)$   $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  no tempo  $t_0$  de coleta. Portanto, em primeiro momento, fica comprovado que a taxa de consumo dessa molécula foi mais acentuada, principalmente na primeira de hora ciclo, por causa da interferência dos complexos. Entretanto, percebam que, nesse mesmo intervalo de tempo, a produção de ácido acético, único ácido orgânico detectado nessa condição e possivelmente oriundo da sulfetogênese incompleta, aconteceu também de maneira mais aguda, bem como, o consumo de DQO. Logo, apesar da análise turbidimétrica, nesse caso, não caracterizar a verdadeira taxa de consumo de sulfato, é muito provável que a variação desta molécula também se deu de maneira abrupta, já que o reator se estabeleceu como sulfetogênico completamente. Daqui, pode-se tirar a conclusão de que o efeito dos complexos se prolonga até mais de uma hora de ciclo, se a queda de concentração de sulfato for realmente acelerada.

Outro comportamento interessante é o do ácido acético na fase I-A. Diferentemente das fases de batelada alimentada, pode-se dizer que a concentração dessa espécie se manteve constante da 2<sup>a</sup> até a 8<sup>a</sup> hora de operação. E mais, se comparada à fase preliminar, em que as concentrações de  $\text{HA}_C$  se elevaram gradativamente ao longo do ciclo e a mesma tendência do perfil da redução de sulfato foi observada, têm-se um indicativo de que grande parte do

acetato gerado, mostrado na Figura 41, foi degradado a partir de outras rotas metabólicas. Isso aponta para algumas possibilidades: a presença da sulfetogênese completa por acetato; ou a maior atividade das BRS completas que degradam substratos orgânicos de cadeias maiores, como etanol e lactato. A complexação do  $\text{Fe}^{2+}$  pelos aminoácidos do soro, garantindo maior biodisponibilidade desse metal precursor de material genético, pode ter sido responsável pela aceleração da atividade metabólica de outros microorganismos presentes na microbiota.

Figura 41 - Perfil temporal do  $\text{HA}_c$  na fase preliminar de Adaptação e na fase I-A



Fonte: Do autor.

Ainda com relação ao ácido orgânico, em todas as estratégias, a concentração máxima se aproximou dos  $300 \text{ mg.L}^{-1}$ , mas não ultrapassou esse limite. E, se, na fase de adaptação, relataram-se valores maiores de ácido acético, sem nenhuma inibição aparente, pode-se dizer que a queda consecutiva de remoção de sulfato nas fases II-A e III-A muito possivelmente não foi causada pela presença desse ácido. Outros trabalhos relataram valores bem maiores de ácido acético na operação de reatores em escala de bancada sem atrapalhar o desempenho do reator (ACERBI, 2015; ARCHILHA et al., 2010; PEREIRA, 2017).

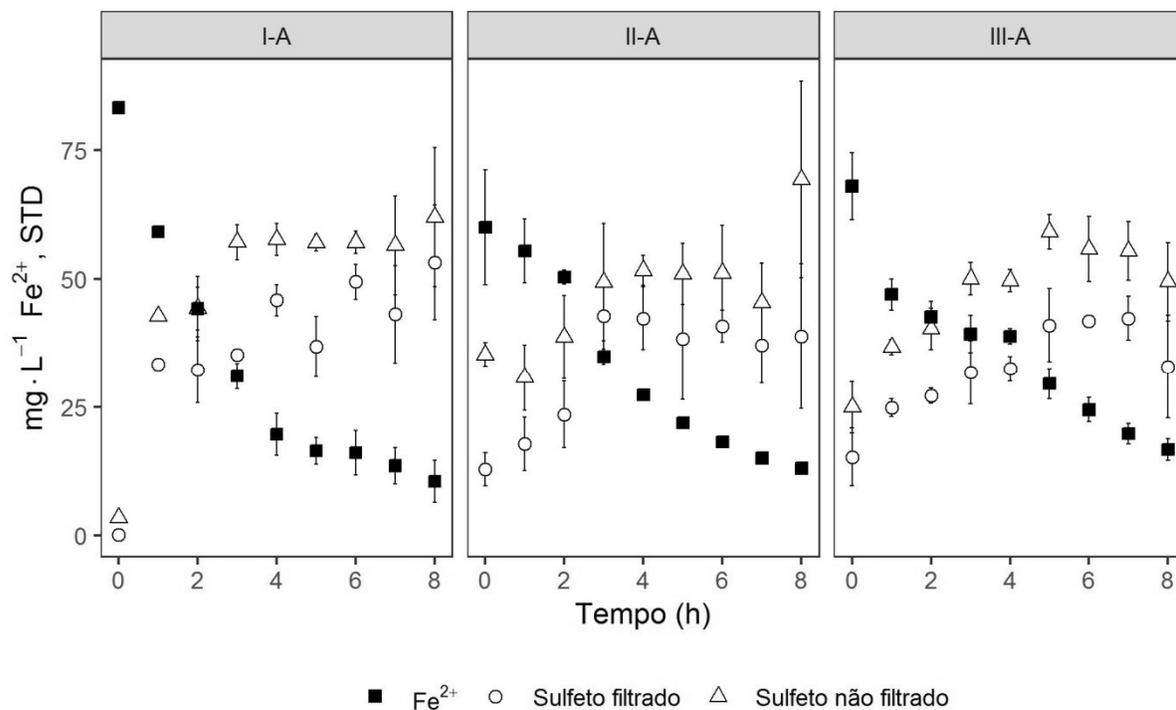
Com relação às concentrações iniciais de sulfato na fase II-A e III-A, ( $361 \pm 28$ )  $\text{mg.L}^{-1}$  e ( $375 \pm 37$ )  $\text{mg.L}^{-1}$ , obtidas a partir da análise com uso de HCl, ficou evidente o efeito de diluição já citado nessas estratégias. Outros parâmetros como DQO e  $\text{Fe}^{2+}$ , Figura 40 e 42, também foram influenciados por esta característica no início do ciclo. Da Figura 40, observações importantes podem ser feitas ao se atentar ao comportamento de  $\text{SO}_4^{2-}$  antes e após se completar o volume total do sistema. Na fase II-A, até a 2ª hora de ciclo, o consumo aparente é, supostamente, linear, porque a vazão alimentada é suficientemente grande a ponto

de causar um incremento contínuo na concentração de  $\text{SO}_4^{2-}$  já que após passar pelo leite e reagir, qualquer elemento de volume segue para o módulo receptor, ponto de encontro com a DASM “nova” da entrada. Depois de carregar o sistema com o volume total de trabalho, nas 6 horas restantes, a redução de sulfato acontece de maneira mais tênue que na fase I-A, mas ainda remete à características de uma reação de primeira ordem. A diminuição da taxa de consumo ao longo do tempo pode ser explicada pela menor concentração inicial causada pela diluição, mas também, por algum fenômeno que limite a velocidade global de reação, como, uma resistência à transferência de massa ou uma possível competição por substrato entre as BRS completas e arqueias metanogênicas.

Outro fato capaz de realçar a dificuldade em difundir as moléculas de substrato do seio do líquido para o material suporte é o adensamento do leite relatado nessa fase e já citado no início da seção 6.4.1. Na realização de um dos perfis de sulfato da fase II-A, observou-se uma queda de desempenho. A vazão de recirculação era 30% menor naquele momento, e a eficiência na remoção de sulfato sofreu uma queda de 20%, indicando que, possivelmente, a diminuição da velocidade ascensional aumentou a espessura média da camada limite, tornando as moléculas de substratos menos acessíveis na superfície e no interior da espuma.

Na fase III-A, a partir da 4ª hora de ciclo, o sulfato decaiu seguindo cinética de ordem zero, garantindo que as taxas de consumo são praticamente constantes a partir dali. Considerando a equação de Monod, esse comportamento é válido quando se atinge a velocidade máxima de crescimento, ou seja, quando os microrganismos apresentam capacidade máxima de degradação do substrato. Porém, se a concentração final de  $\text{SO}_4^{2-}$  sempre foi menor nessa fase, garantindo menores taxas de consumo, fica evidenciado que a saturação aconteceu por algum fator inibitivo e não pela adaptação completa das BRS às hipotéticas condições favoráveis do meio.

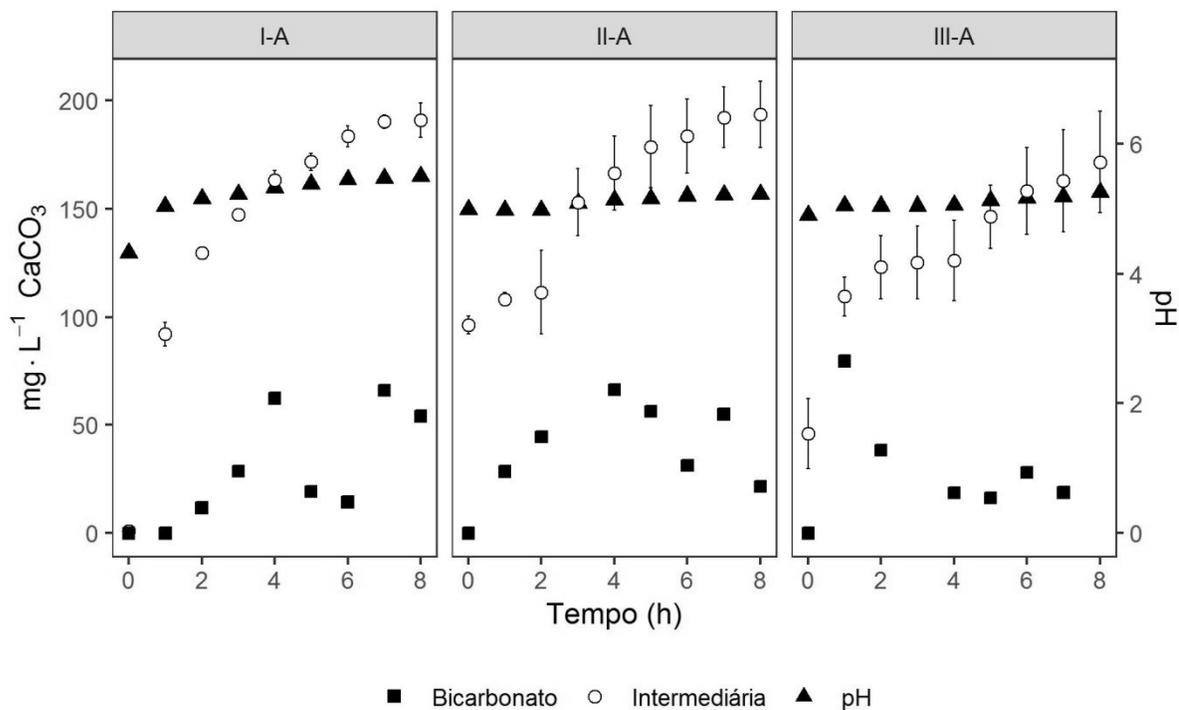
Da Figura 42, reporta-se o efeito da diluição na concentração inicial de  $\text{Fe}^{2+}$ . Análises com hidroxilamina foram realizadas, mas nenhuma diferença entre FTD e  $\text{Fe}^{2+}$  foi computada. Outra curiosidade é a grande variação das concentrações de sulfeto pro mesmo tempo de ciclo em diferentes replicatas, provada pelos grandes erros na medida, que também evidencia a instabilidade no método.

Figura 42 - Perfis temporais de  $\text{Fe}^{2+}$  e STD para cada fase da condição A

Fonte: Do autor.

Os mesmos aspectos verificados no consumo de sulfato são também vistos na remoção de  $\text{Fe}^{2+}$ . Pra fase I-A, a remoção do metal ao longo do tempo é aguda, se atenuando à medida que se aumenta o tempo de enchimento. Logo, como o comportamento se intensificou ao longo do tempo de operação, acredita-se que os sulfetos metálicos precipitados ao longo da fase I-A aderiram-se a grande parte da superfície do material suporte alocado no leito, originando uma camada de sólidos teoricamente inertes que causaram um bloqueio estérico, impedindo a difusão do substrato para as regiões mais internas da espuma. Dessa forma, além da compactação do leito, que deve ter gerado caminhos preferenciais, diminuindo o aproveitamento do volume útil do reator, a deposição de precipitados na superfície da espuma deve ter afetado a disponibilidade de área superficial para desenvolvimento adequado das reações heterogêneas. Utgikar et al. (2002), a partir de ensaios em batelada e de análises com microscopia eletrônica, provaram que precipitados de cobre e zinco formados pela reação com sulfeto biológico são responsáveis por uma estranha inibição externa. Segundo eles, esses sais devem funcionar como barreiras físicas, impedindo a acessibilidade de substratos às enzimas necessárias para o desenvolvimento adequado das rotas metabólicas. Apesar de prejudicial, o acúmulo superficial de sólidos é apenas inibidor e não apresenta toxicidade a ponto de permitir o colapso do sistema. Os autores ainda citam que essa condição deve ser relevante no momento do projeto de reatores para tratamento de DASM.

Figura 43 - Perfis temporais de alcalinidade e do pH para cada fase da condição A



Fonte: Do autor.

Pela Figura 43, fica claro que a variação do pH ao longo das 8 horas de operação é praticamente nula para as fases de batelada alimentada, e bem suave na estratégia de batelada logo na primeira hora de ciclo, ficando mais gradativa ao longo dele se comparada as outras condições. Em todas as estratégias, o ciclo iniciou com pH acima de 4 e, terminou com valores ligeiramente maiores que 5, o que também pode ter afetado o consumo de ferro por precipitação de metais (LIU et al., 2017).

A repetição dos mesmos valores de pH de saída ao longo da condição A pode ter sido fundamental para a adaptação das arqueias metanogênicas, culminando numa maior atividade dessas espécies na última estratégia de alimentação, o que poderia explicar o menor direcionamento de matéria orgânica para a rota sulfetogênica. Pimenta, (2014) verificou que após 120 dias de operação, gás metano foi detectado no headspace de um reator UASB usado no tratamento de DASM com lactato como fonte de carbono, principal açúcar encontrado no soro de leite, e pH inicial da DASM próximo ao usado aqui. A presença de sulfeto livre também pode ser tóxico para o sensível grupo das AMA. Porém, do mesmo modo que o pH, a concentração de H<sub>2</sub>S nas amostras de saída variaram praticamente dentro da mesma faixa de valor, promovendo a adaptação desta espécie. Alguns trabalhos ainda noticiam atividade metanogênica na presença dessas concentrações de H<sub>2</sub>S (ACERBI, 2015; ISA et al. 1986a; PIMENTA, 2014; SPEECE, 1996). Isa et al. (1986a), operando um reator de

leito fixo, afirma que reatores com biomassa imobilizada apresentam a vantagem da ocorrência de produção do metano quando altas concentrações de  $\text{H}_2\text{S}$  estão presentes. Nesse trabalho, a metanogênese só foi inibida a partir de  $1000 \text{ mg H}_2\text{S}\cdot\text{L}^{-1}$ .

Os parâmetros estimados a partir do modelo I, para a fase I-A, encontram-se na Tabela 15:

Tabela 15 - Estimativa dos parâmetros do modelo I ajustado aos dados dos perfis temporais das espécies  $\text{DQO}_{\text{MO}}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  e Acetato para a fase I-A

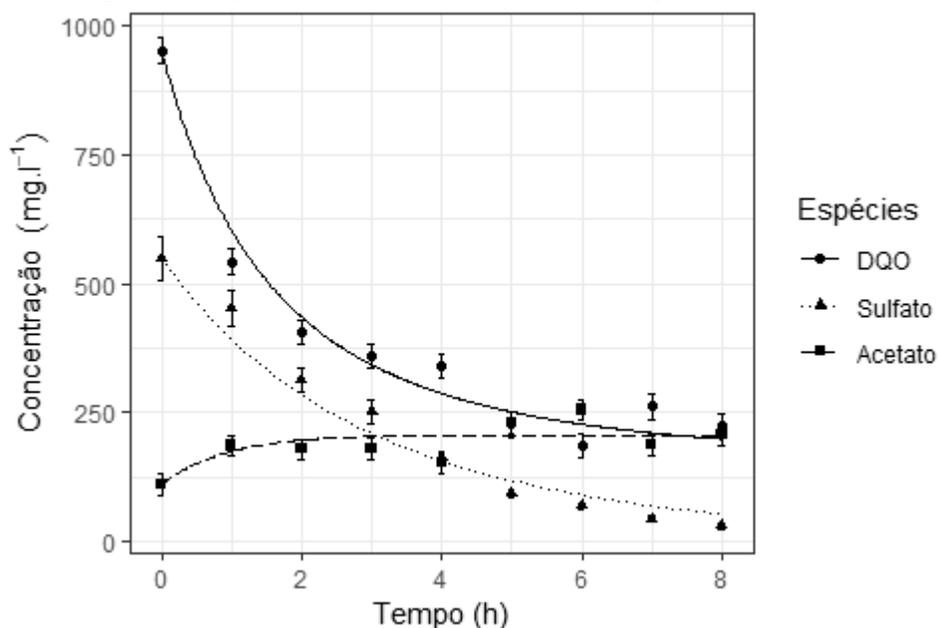
Parâmetros	Rotas	Estimativa $\pm$ Erro padrão	p-valor
$k_1 \text{ (h}^{-1}\text{)}$	Hidrólise/Acidogênese/Acetogênese	$(6\cdot 10^{-2} \pm 2\cdot 10^{-2})$	0,01
$k_2 \text{ (L}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}\text{)}$	Sulfetogênese Incompleta	$(9\cdot 10^{-5} \pm 5\cdot 10^{-5})$	0,1
$k_3 \text{ (L}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}\text{)}$	Sulfetogênese completa por $\text{MO}_{\text{CL}}$	$(1\cdot 10^{-3} \pm 1\cdot 10^{-4})$	$10^{-9}$
$k_4 \text{ (L}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}\text{)}$	Sulfetogênese completa por acetato	$(5\cdot 10^{-4} \pm 1\cdot 10^{-4})$	$10^{-5}$

Fonte: Do autor.

Pela Tabela 15, todas as rotas sulfetogênicas foram preponderantes na operação do AnSBBR na fase I-A. Diferentemente da fase preliminar, o parâmetro  $k_4$  referente a atuação das BRS completas por acetato torna-se significativo aqui, o que poderia explicar o incremento na remoção de  $\text{SO}_4^{2-}$  e DQO. Por isso, até essa fase, a adição do  $\text{Fe}^{2+}$  parece ter realmente favorecido o desenvolvimento de uma maior diversidade microbiana com relação as BRS. O parâmetro  $k_2$  referente a atividade das BRS incompletas apresenta p-valor de 0,1, tornando-se não significativo para o modelo, se considerarmos um nível de significância de 0,05. Entretanto, isso não impede as BRS incompletas de realmente terem participado no consumo do  $\text{SO}_4^{2-}$  ao longo dos ciclos, simbolizando apenas uma maior atividade das espécies completas. A ausência do parâmetro aparente  $k_5$  pode retratar a não participação das AMA nas rotas metabólicas da digestão anaeróbia. O aumento da ordem de 10 vezes do parâmetro  $k_3$  se comparada com esse parâmetro na fase preliminar poderia ser um indicativo do forte sinergismo existente entre estas espécies acidogênicas e as BRS, explicado por uma rápida degradação das moléculas complexas e um rápido consumo por parte das redutoras de  $\text{SO}_4^{2-}$ . Ressaltando ainda que, ao invés de se utilizar a concentração inicial de sulfato medida no início do ciclo ( $729\pm 43$ )  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , caracterizada por contabilizar a interferência dos complexos na análise, a concentração escolhida para a regressão foi de  $550 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , sendo mais fiel às verdadeiras condições experimentais existentes no começo do perfil. De qualquer forma, o ajuste do modelo aos dados experimentais realça o fato do AnSBBR se comportar como sulfetogênico completo na fase I-A, sendo a probabilidade de ocorrência da metanogênese muito pequena, já que o parâmetro  $k_5$  apresentou valor médio de zero.

A Figura 44 demonstra os pontos experimentais acompanhados dos pontos teóricos preditos pela regressão.

Figura 44 - Comportamento experimental e comportamento teórico, predito pelo modelo I, das espécies  $DQO_{MO}$ ,  $SO_4^{2-}$  e Acetato durante o perfil da fase I-A



Fonte: Do autor.

Os ajustes dos modelos para a batelada alimentada ainda não foram confeccionados.

### 5.2.3.3 Aspectos principais

A seguir tem-se alguns tópicos relatando os principais acontecimentos e comportamentos que influenciaram o desempenho do sistema na condição A:

- A redução de sulfato diminuiu à medida que se aumentou o tempo de enchimento, porém essa queda de eficiência não deve estar relacionada com a estratégia de alimentação, mas sim, com a redução da CSA e com fatores inibitivos atuantes na maioria dos parâmetros monitorados, que se intensificaram ao longo da operação, como o empacotamento do leito e a deposição de sulfetos metálicos na superfície do material suporte;
- A menor CSA, causada pela manutenção de um volume residual, nas fases II-A e III-A pode justificar às menores eficiências de remoção de  $SO_4^{2-}$  dessas fases quando comparadas com a fase I-A, mas não deve justificar a queda de eficiência, em termos

de redução de sulfato, ao se comparar as situações de batelada alimentada, apontando, mais uma vez, para a existência de fatores prejudiciais à sulfetogênese;

- O surgimento da metanogênese após um longo período de adaptação pode se encaixar como fator de atenuação da sulfetogênese entre as fases II-A e III-A, graças a competição por substrato entre BRS completas e AMA, essas últimas possivelmente alocadas nas camadas mais profundas do biofilme formado no material suporte e protegidas estéricamente de metabólitos tóxicos como a concentração de  $H^+$  e o  $H_2S$ ;
- Muito provavelmente o mecanismo predominante na remoção do  $Fe^{2+}$  foi a precipitação por sulfetos metálicos, principalmente nas fases I-A e II-A, visto as remoções com comportamento de exponencial decrescente relatadas e o fato das maiores conversões de  $SO_4^{2-}$  garantirem maiores remoções de  $Fe^{2+}$ ;
- Acúmulo de sólidos no módulo receptor e no leito exigiram maior número de rotações da bomba peristáltica utilizada, comprovando o surgimento de uma contra-pressão e uma maior resistência ao escoamento da DASM pelo sistema como um todo.

#### 5.2.4 Condição B

As médias dos principais parâmetros averiguados ao longo da condição B, com carga teórica aplicada de sulfato equivalente à  $3,0 \text{ g.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ , estão representadas na Tabela 16, considerando um intervalo de confiança de 95% para os erros calculados. Da Tabela 16, em primeiro, observa-se que a carga experimental aplicada de sulfato se enquadrou dentro do valor teórico pré-estabelecido, eliminando qualquer possibilidade de anomalias analíticas ao se contabilizar as concentrações de sulfato nas amostras de entrada, fenômeno também relatado por Pereira (2017). Acredita-se que os quelatos ainda tenham se formado no meio de entrada, mas como a carga de DQO foi dobrada e a carga de ferro mantida, uma pequena parcela dos aminoácidos foi direcionada para a complexação. Além disso, pode ser que a maior diluição das amostras de sulfato, para encaixe na curva de calibração, tenha extinguido a interferência. Para a condição B, a estratégia mais eficiente em termos de redução de sulfato, foi a de batelada alimentada em 4 horas.

Tabela 16 - Variáveis monitoradas ao longo da condição B

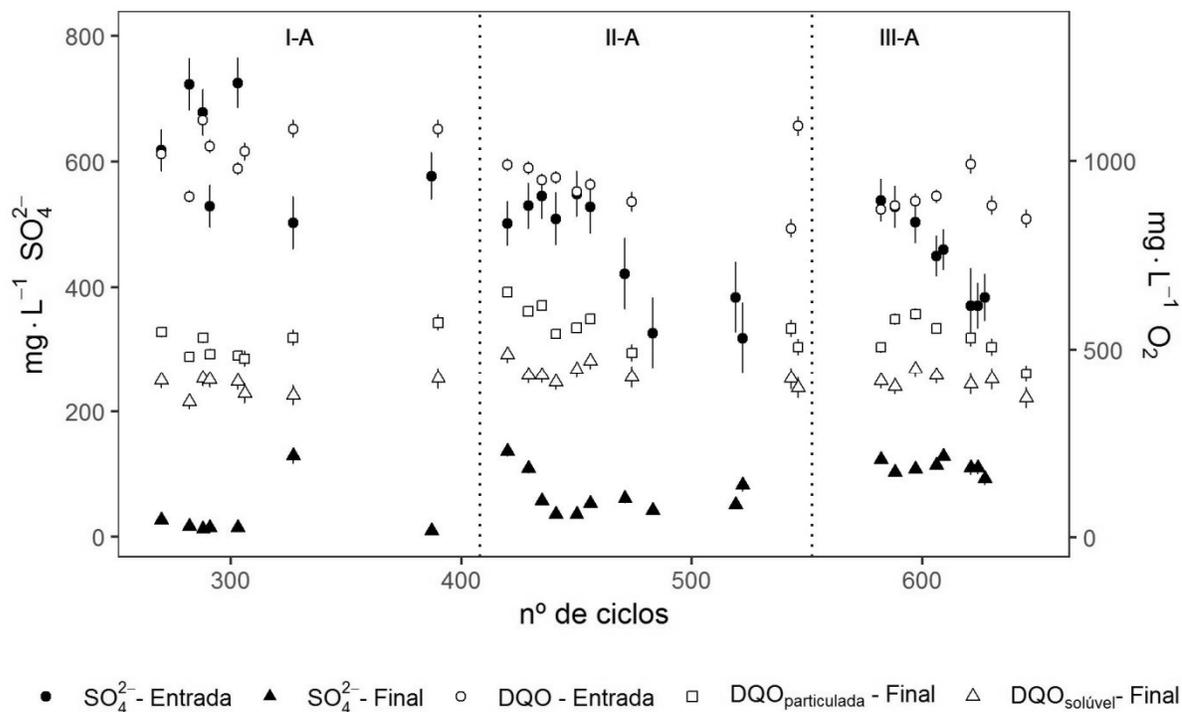
Parâmetros	I-B	II-B	III-B
COA (mgDQO.L <sup>-1</sup> .dia <sup>-1</sup> )	5,7±0,6 <sup>(6)</sup>	5,7±0,2 <sup>(4)</sup>	5,8±0,5 <sup>(6)</sup>
COR (mgDQO.L <sup>-1</sup> .dia <sup>-1</sup> )	2,6±0,2	2,8±0,3	2,7±0,2
$\epsilon_{DQO}$ (%)	46±5	49±4	46±6
CSA (mgSO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> .L <sup>-1</sup> .dia <sup>-1</sup> )	3,0±0,2 <sup>(5)</sup>	3,1±0,4 <sup>(5)</sup>	2,95±0,14 <sup>(6)</sup>
CSR (mgSO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> .L <sup>-1</sup> .dia <sup>-1</sup> )	1,2±0,3	1,38±0,08	1,76±0,09
$\epsilon_{SO_4^{2-}}$ (%)	40±8	42±6	61±1
pH <sub>entrada</sub>	3,1 <sup>(3)</sup>	3,2 <sup>(3)</sup>	3,2 <sup>(5)</sup>
pH <sub>final</sub>	5,0	5,0	4,9
STD <sub>não filtrada</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	109±34 <sup>(5)</sup>	114±17 <sup>(6)</sup>	122±16 <sup>(4)</sup>
STD <sub>filtrada</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	87±21	87±19	102±15
Alcalinidade <sub>total</sub> (mgCaCO <sub>3</sub> .L <sup>-1</sup> )	292±14 <sup>(5)</sup>	299±43 <sup>(4)</sup>	262±46 <sup>(6)</sup>

Fonte: Do autor.

Vale ressaltar também a atenuação da diluição do sistema para os pontos coletados no início do perfil (geralmente os três últimos pontos de cada estratégia), graças à mudança no sistema de descarte comentado na seção 4.1.2.

A Figura 45 mostra a queda gradativa de eficiência na remoção de sulfato logo nos primeiros 50 ciclos da fase I-B até estabilização por volta do 710º ciclo. A remoção de DQO contabilizada como matéria orgânica acompanhou esse impacto negativo na sulfetogênese, sugerindo que, mais uma vez, as condições do meio eram desfavoráveis para a atuação de arqueias metanogênicas. A priori, o aumento da carga orgânica aplicada, para o dobro da primeira condição, deve ter contribuído para a diminuição da performance global do sistema ao decorrer desta situação estudada.

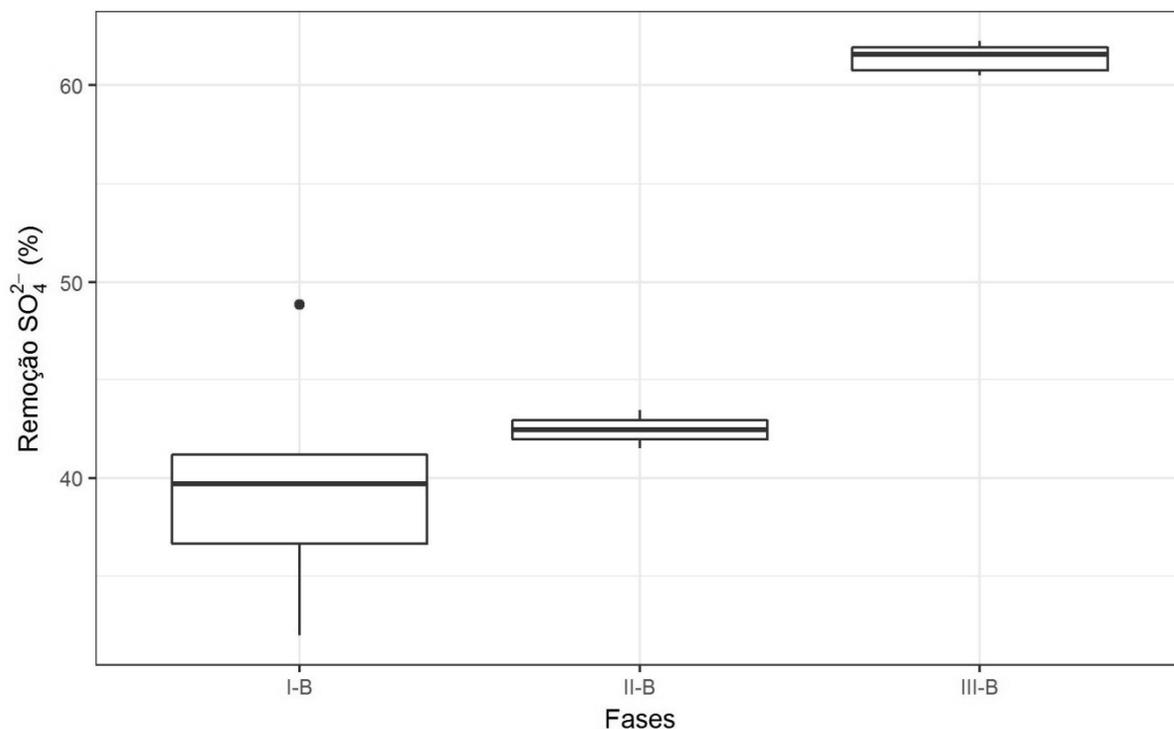
Figura 45 - Variação da DQO e das concentrações de  $\text{SO}_4^{2-}$  em cada fase da condição B



Fonte: Do autor.

A aplicação do teste ANOVA para as remoções médias de sulfato evidencia diferença em, pelo menos, uma das estratégias de alimentação adotada, visto o p-valor obtido de  $10^{-5}$ , menor que o  $\alpha$  de 0,05. O teste de Tukey, utilizado pelo fato de cada grupo ter o mesmo número amostral, com significância estatística de 95%, revelou um p-valor equivalente a 0,75 ao comparar a fase I-B e II-B, indicando semelhantes remoções do parâmetro analisado. Ainda no teste de Tukey, tem-se que a fase III-B se diferencia das restantes, com p-valores da ordem de  $10^{-4}$  quando se faz a comparação, estabelecendo-se, verdadeiramente, como a estratégia de maior eficiência na condição B. A Figura 46 mostra a dispersão das concentrações de  $\text{SO}_4^{2-}$  ao final dos ciclos para cada fase da condição B:

Figura 46 - Boxplot para remoção de  $\text{SO}_4^{2-}$  em cada fase da condição B

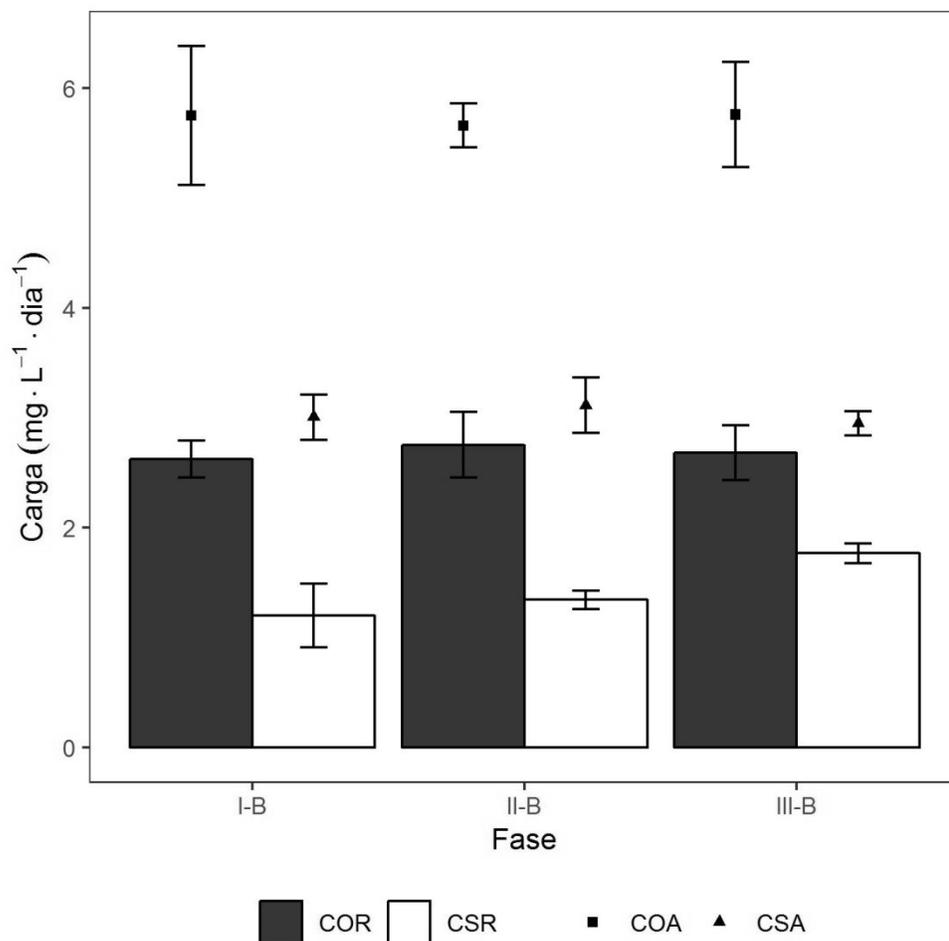


Fonte: Do autor.

Avaliando a DQO filtrada, contabilizada como matéria orgânica, no final de ciclo em cada estratégia de alimentação, relata-se uma pequena flutuação. O teste ANOVA de um fator, quando aplicado para remoção de DQO, forneceu um p-valor de 0,64, refutando a hipótese alternativa de que existe diferença entre os grupos. Logo, fica comprovado, estatisticamente, que a remoção de DQO foi a mesma para os diferentes tipos de enchimento.

Dessa maneira, é bem provável que como nas duas últimas fases da condição A, rotas metabólicas diferentes da sulfetogênese tenham se firmado como predominantes na operação do AnSBBR, justificando o menor direcionamento de moléculas orgânicas para a rota responsável por reduzir o  $\text{SO}_4^{2-}$  na condição B. A Figura 47 ajuda a visualizar esse fenômeno, demonstrando a discrepância entre a COR e CSR das fases I-B e II-B.

Figura 47 - COA, CSA, COR e CSR em cada fase da condição B



Fonte: Do autor.

Sabendo que a CSR média da fase I-B se equipara a CSR média da fase I-A, a COR da 1ª fase da condição B deveria ser, então, cerca de  $(53 \pm 6)\%$  menor que o valor registrado experimentalmente. Com isso, pode-se considerar que esse excesso de matéria orgânica removida muito provavelmente se relaciona com o desenvolvimento mais sólido de AMA no consórcio microbiano, visto que na fase III-A, obtiveram-se alguns indícios do início da atividade metanogênica, resultado de um longo período de adaptação às condições adversas da DASM. O mesmo raciocínio pode ser implementado para a fase II-B, já que os valores de CSR e COR são estatisticamente iguais. Entretanto, a pequena variação da CSR média na fase II-B indica uma maior estabilidade na redução de  $\text{SO}_4^{2-}$ , podendo garantir o início de uma readaptação das BRS as condições do meio reacional.

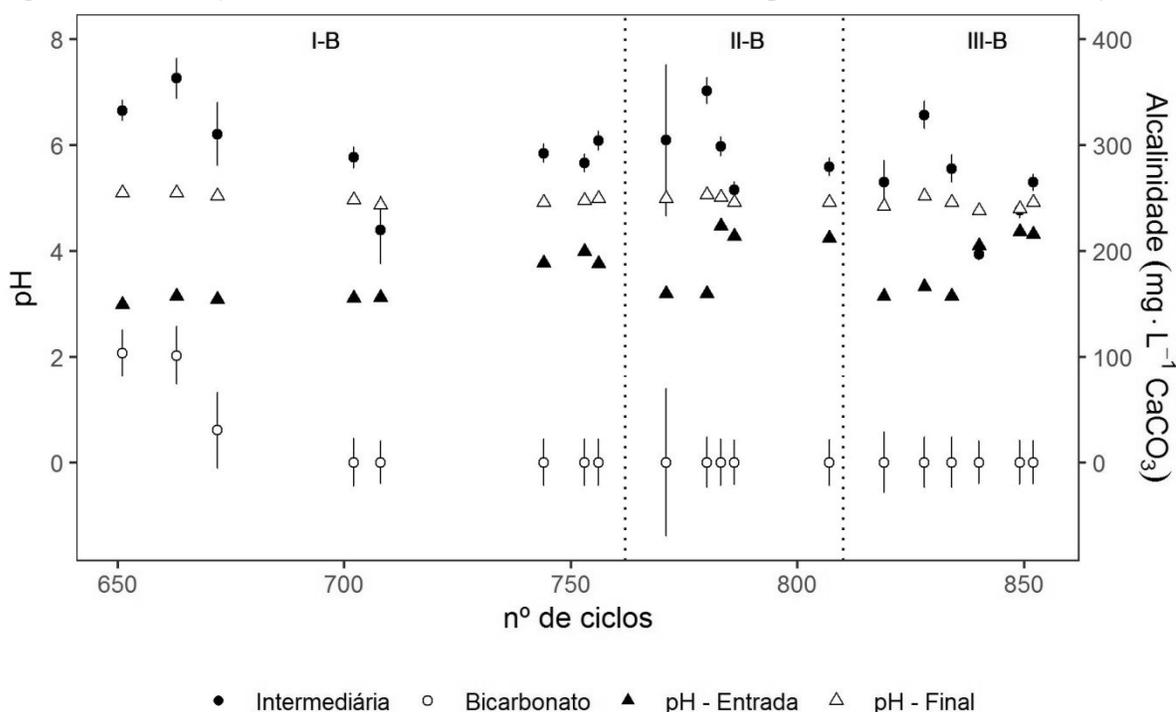
Contudo, a atividade metanogênica não explicaria a CSR, nas fases I-B e II-B, comparada com a maior CSA, já que as AMA competem apenas por acetato, e como já confirmado, apesar da existência de BRS completas por acetato, existiu também o predomínio

das sulfetogênicas incompletas e completas de moléculas orgânicas maiores em fases anteriores. Na ausência de fatores inibitivos, espera-se uma maior utilização das moléculas de  $\text{SO}_4^{2-}$  por estas últimas bactérias, justamente pela maior disponibilidade, o contrário do que é relatado aqui.

Portanto, por mais que a DQO residual seja a mesma em todas as condições, é impossível tirar conclusões mais detalhadas sobre a influência da matéria orgânica residual na sulfetogênese sem quantificar e caracterizar os ácidos orgânicos ao final e ao longo do ciclo. É de extrema importância também, analisar a distribuição das espécies orgânicas dissociadas e não dissociadas, juntamente com o pH do meio reacional, que são ditadores do bom funcionamento da digestão anaeróbia.

Pela Figura 48, conclui-se que a alcalinidade à bicarbonato produzida no começo da operação, justamente pelas maiores conversões de sulfato naquele momento, foi totalmente consumida, atingindo valores muito próximos da nulidade, quando o reator deu sinais de repetitividade.

Figura 48 - Variação da alcalinidade ao final dos ciclos e do pH em cada fase da condição B



Fonte: Do autor.

A inexistência de moléculas de bicarbonato na amostra efluente se estabeleceu por todas as fases da condição B. Sendo assim, a alcalinidade total do sistema refere-se apenas aos ácidos orgânicos acumulados durante a sulfetogênese e a fermentação anaeróbia, sendo, mais

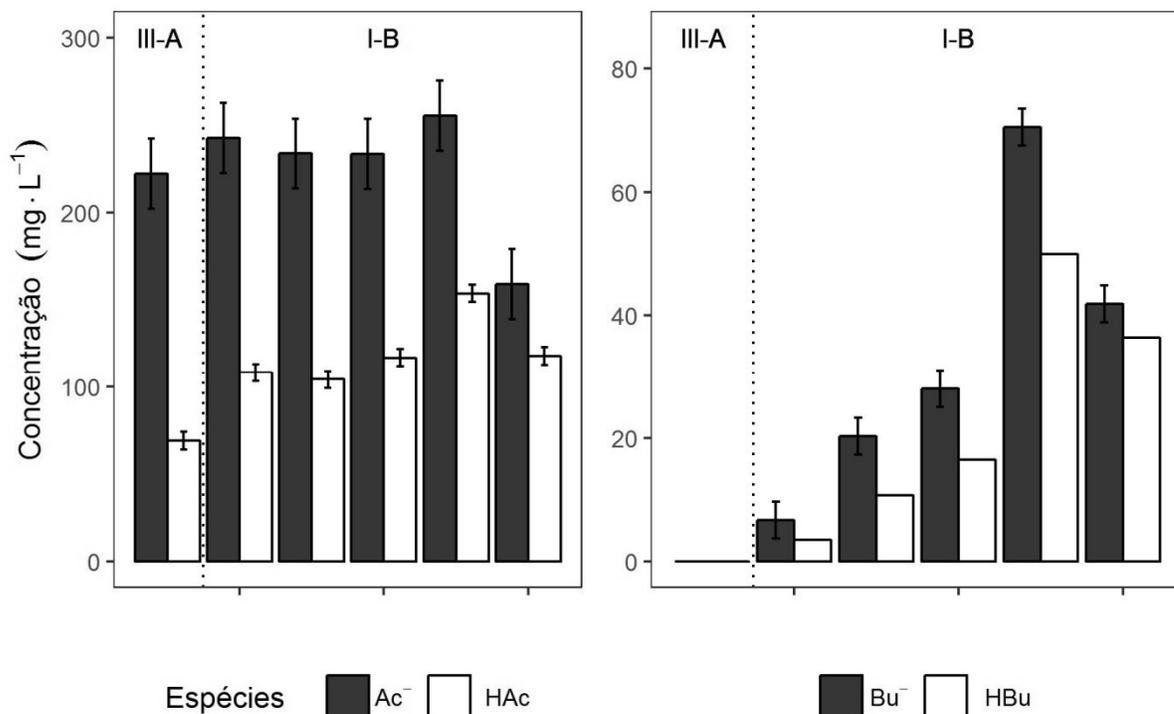
uma vez, um forte indício de desequilíbrio nas rotas metabólicas. Pode-se dizer, então, que, com o aumento da carga orgânica aplicada, as bactérias acidogênicas, que apresentam cinética mais acelerada, foram favorecidas e a taxa de conversão das moléculas orgânicas mais complexas em ácidos orgânicos voláteis foi superior à capacidade das BRS utilizarem totalmente este substrato disponível para redução do sulfato.

Ainda nesse sentido, como a maior parte do soro é composta por lactose, e o uso do lactato por BRS incompletas é termodinamicamente mais favorável se comparada ao uso dos outros produtos da acidogênese, uma competição por esse substrato de maior cadeia carbonácea deve ter surgido entre as BRS, acidogênicas e acetogênicas. Pelas condições mais favoráveis, com o aumento da carga orgânica aplicada, as fermentativas e acetogênicas prevaleceram sobre as BRS, com essa última espécie mantendo praticamente a mesma taxa de utilização de substrato relatadas na condição A.

O processo fermentativo anaeróbio se deu de maneira tão exagerada que toda alcalinidade a bicarbonato produzida pela sulfetogênese foi consumida pelos ácidos orgânicos, provocando a pequena variação de pH relatada em todas as fases (RITTMANN; McCARTY, 2001). Não menos importante, a manutenção de um volume residual nos interstícios do leite, nessa condição, deve ter sido fundamental na criação de condições favoráveis mínimas para a sulfetogênese. Isso pelo fato de causar a diluição do meio de entrada com pH próximo de 3 para valores de pH médio de início de ciclo equivalente a 3,85, 4,4 e 4,35 nas fases I-B, II-B e III-B, respectivamente.

Como o pH foi decaindo ao decorrer da fase I-B, como visto na Figura 48, a parcela de ácidos orgânicos voláteis nos primeiros ciclos dessa fase, foi comparada com a composição dos ácidos orgânicos do último ciclo da fase III-A, a mais eficiente no quesito produção de ácidos. Essa alternativa foi adotada a fim de averiguar a possibilidade de um efeito de inibição para situações de choque orgânico.

Figura 49 - Distribuição das espécies de AOV na transição entre as fases III-A e I-B



Fonte: Do autor.

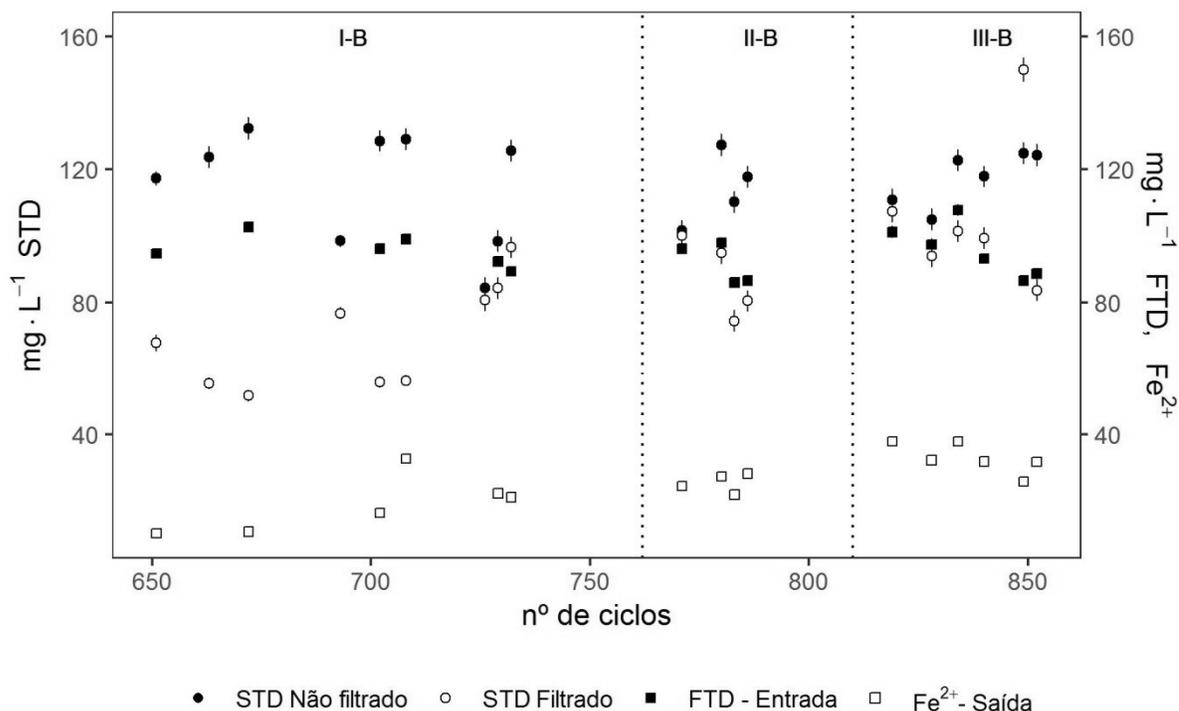
Analisando a Figura 49 fica nítido o aumento gradativo na concentração total do ácido acético quantificado nas amostras efluentes logo nos primeiros ciclos da fase I-B. E mais, apesar da contribuição ser menor na DQO residual do que na condição A, a concentração desse ácido na forma livre também aumentou de maneira gradual, atingindo concentração de  $118 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  por volta do 700º ciclo (70% maior que a concentração máxima encontrada na condição A). As pequenas variações e os valores de pH relatados, contribuíram por tornar o ácido acético um possível inibidor da atividade microbiana, principalmente das BRS que competem pelo substrato com as acidogênicas e acetogênicas.

O ácido butírico também foi detectado nas amostras efluentes, e por conta do pH, parte dele se encontra na forma não ionizada. Além de ser outro ácido com capacidade de reduzir os fenômenos bioquímicos, a presença dessa espécie foi mais um sinal da diferença de consumo de substratos entre as espécies acidogênicas e as redutoras de sulfato, na presença de um choque orgânico. Sendo assim, acredita-se que o maior acúmulo de ácidos foi um dos fatores que provocou a queda da sulfetogênese no início da operação do sistema. Apesar da relação  $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$  de 2 não ter prejudicado a diversidade e a distribuição microbiana em reatores que fizeram uso de moléculas orgânicas mais complexas como doador de elétrons, como visto em Deng et al. (2016), alguns autores alertam para o efeito inibitivo das moléculas de ácidos

orgânicos voláteis produzidas na acidogênese em condições de baixo pH, quando a fonte de carbono, como o soro de leite, é dosado em excesso, além da razão mínima exigida para ocorrência adequada da sulfetogênese (KIMURA et al., 2006; PEREIRA, 2017; SÁNCHEZ-ANDREA et al., 2014).

Resumidamente, até aqui, pode-se considerar que, mesmo com a operação do AnSBBR em condições capazes de causar o colapso total do sistema, a sulfetogênese manteve-se minimamente ativa até voltar a responder de forma mais favorável na estratégia com batelada alimentada de 4 horas, enquanto a metanogênese se beneficiou da maior produção de acetato e foi acessada ao longo de toda a condição. Como a fase III-B, se mostrou mais eficiente na remoção de  $\text{SO}_4^{2-}$ , pode-se considerar que o reator apresentou boa capacidade de recuperação, sendo a variação na técnica de carregamento do sistema responsável direta por esse acontecimento. A Figura 50 mostra o comportamento do STD e do  $\text{Fe}^{2+}$  ao longo da condição B.

Figura 50 - Variação das concentrações de FTD,  $\text{Fe}^{2+}$  e STD em cada fase da condição B



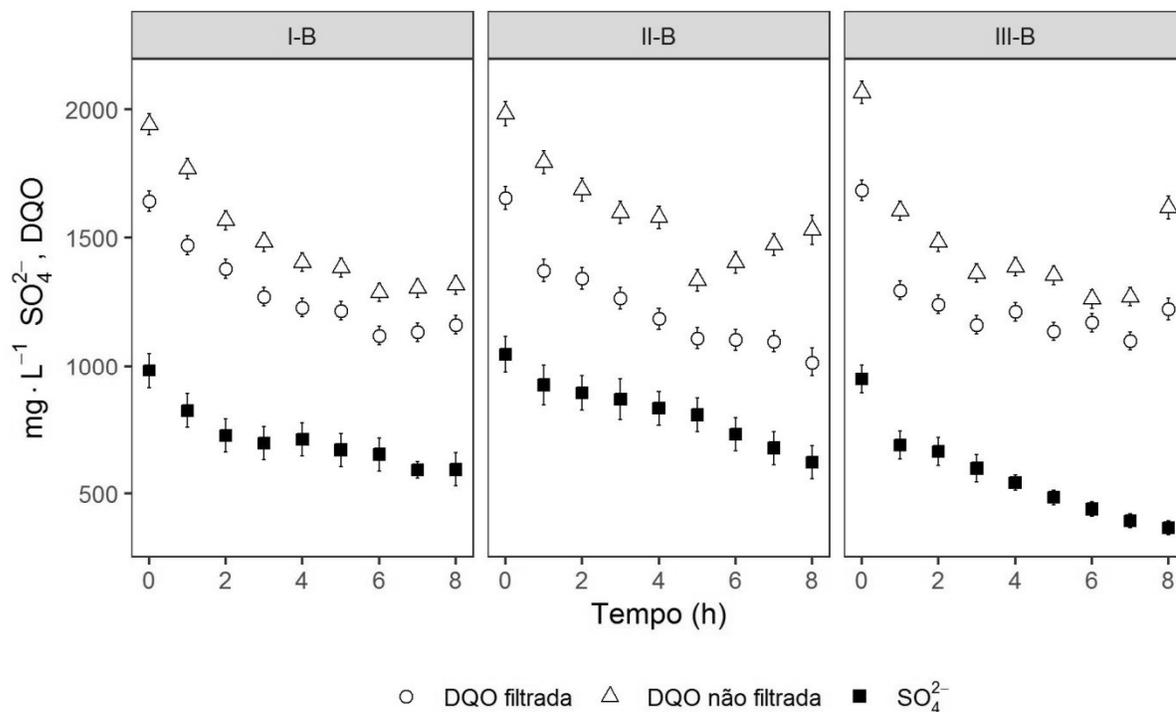
Fonte: Do autor.

A remoção do  $\text{Fe}^{2+}$  foi de  $(76 \pm 3)\%$ ,  $(72 \pm 5)\%$  e  $(66 \pm 3)\%$  para as fases I-B, II-B e III-B, respectivamente. Apesar de valores aproximados, a aplicação do teste ANOVA garantiu que pelo menos uma das fases foi diferente nesse quesito, e o teste de Tukey-Kramer confirmou

que na III-B, a remoção diferiu das demais, sendo realmente menor. Comparada com as remoções na condição A, é notório que o  $\text{Fe}^{2+}$  permaneceu em maiores concentrações no interior do reator na condição B, para a mesma quantia dosada na entrada. Dessa forma, considerando a precipitação do sulfeto metálico como mecanismo predominante na remoção dos metais, é de se esperar que o STD produzido esteja também em maiores concentrações, como comprovado na Figura 50. Atentando-se ao STD filtrado, de uma maneira geral e qualitativa, pode-se dizer que ele se manteve em concentrações elevadas e estáveis, independentemente da remoção de  $\text{Fe}^{2+}$ , e que as variações na concentração do STD não filtrado são bem aleatórias, impedindo a quantificação de sulfeto metálico precipitado pelo cálculo da diferença entre essas quantidades de STD medidas. A concentração de STD filtrado atinge valores que variam entre  $(81\pm 3) \text{ mg.L}^{-1}$  e  $(97\pm 3) \text{ mg.L}^{-1}$  na fase I-B,  $(74\pm 3) \text{ mg.L}^{-1}$  e  $(100\pm 3) \text{ mg.L}^{-1}$  na fase II-B e  $(84\pm 3) \text{ mg.L}^{-1}$  e  $(125\pm 4) \text{ mg.L}^{-1}$  na fase III-B. Os baixos valores de pH fazem com que todo o sulfeto em solução esteja presente na forma livre, que como os ácidos orgânicos, é a espécie mais agressiva. Contudo, os maiores valores de sulfeto foram registrados na fase III-B, e dessa forma, a probabilidade do sulfeto não ionizado ter afetado o desempenho é pequena.

#### 5.2.4.1 Perfis temporais e modelagem cinética

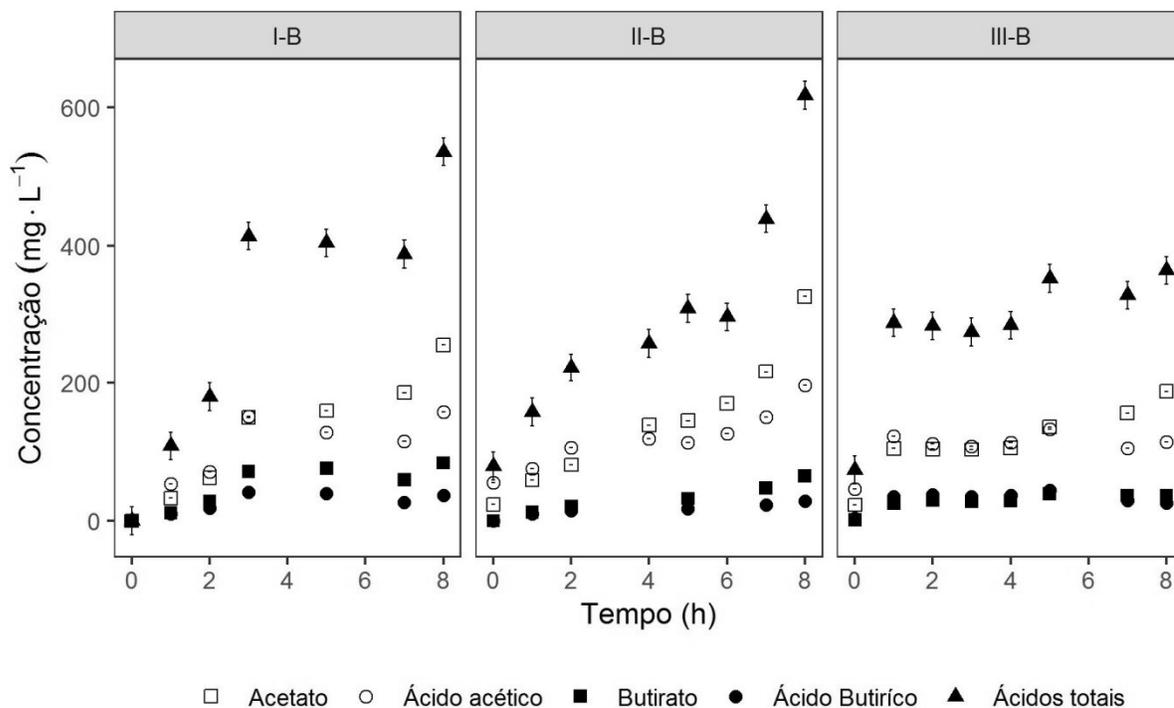
Os perfis temporais da condição B também foram realizados em triplicata e completos de uma maneira mais rápida que na condição A. Em 6 dias tinha-se o mapeamento completo dos parâmetros monitorados, diferente da condição A, em que se gastou, em média, 9 dias. Dessa forma, sulfato e ácidos orgânicos voláteis eram analisados numa replicata, enquanto o restante dos parâmetros analisados em outra. Da Figura 51, é possível verificar que mesmo com diferentes comportamentos na taxa de consumo do  $\text{SO}_4^{2-}$ , para as fases I-B e II-B, têm-se praticamente os mesmos valores de final de ciclo, enquanto a fase III-B, apresentando uma variação mais acentuada ao longo da operação, destaca-se, realmente, como a mais eficiente, com menores valores no término da operação. Na fase I-B, a variação do  $\text{SO}_4^{2-}$  no meio reacional acontece de maneira abrupta nas três primeiras horas de ciclo, alcançando 30% de consumo da quantidade inicial de moléculas, e de maneira mais suave a partir dali, visto a menor taxa de variação, com 15% das moléculas presentes na terceira hora sendo consumidas ao longo das 5 horas restantes, sugerindo o surgimento de alguma condição imprópria para a sulfetogênese a partir daquele momento.

Figura 51 - Perfis temporais de  $\text{SO}_4^{2-}$  e DQO para cada fase da condição B

Fonte: Do autor.

Na Figura 52, a distribuição das espécies de ácidos orgânicos é feita de acordo com o pH do meio monitorado ao longo do perfil. Ao analisá-la, fica evidente que na 3ª hora de ciclo, surgiu o primeiro pico de ácidos totais, com um valor de  $(414\pm 20) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , atrelado também à maior concentração de acético na forma livre  $(158\pm 15) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  e maior concentração de butírico, também na forma não ionizada,  $(41\pm 5) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , nas 8h de análise. Sendo assim, a predominância dessas espécies orgânicas agressivas naquele momento deve ter diminuído a atividade das BRS, provocando a atenuação na remoção do sulfato já relatada. A partir dali, os ácidos não ionizados são degradados lentamente até a última hora de ciclo, atingindo outro pico, esse de maior intensidade, com  $(536\pm 20) \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  para ácidos totais. Talvez, apesar de pequeno, o consumo das espécies orgânicas agressivas tenha favorecido o leve aumento na taxa de variação de  $\text{SO}_4^{2-}$ , indo de  $10^{-5}$  da 5ª até a 6ª hora à  $2\cdot 10^{-3} \text{ mols}\cdot\text{h}^{-1}$ , da anti-penúltima até última hora, o que explicaria uma possível adaptação das BRS sulfetogênicas incompletas ao meio reacional, incrementando a quantidade de ácido acético produzida.

Figura 52 - Distribuição de AOV nos perfis temporais para cada fase da condição B



Fonte: Do autor.

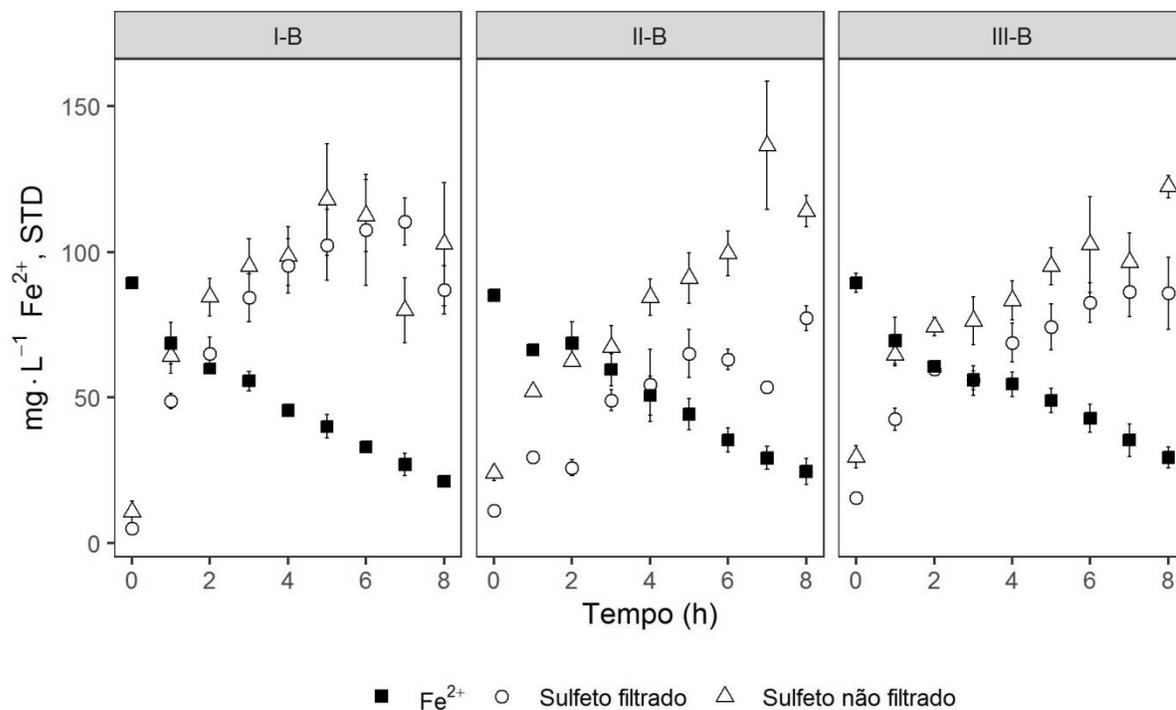
Além disso, deve-se atentar à resistência à transferência de massa externa e interna como fator prejudicial e limitante no desempenho do reator. Couto (2017) relatou comportamento semelhante do consumo de sulfato no perfil I-B ao operar reatores em bateladas tratando DASM. Por meio de modelos alternativos e testes de hipóteses, foi confirmado que a cinética de pseudo-primeira ordem relatada nos ciclos devia-se à resistência da transferência de moléculas do seio do líquido para a superfície do grânulo, limitando a disponibilidade de substrato e a velocidade global de reação.

Para a fase II-B, o consumo de sulfato é gradual nas duas primeiras horas de ciclo, pelo fato de ter ocorrido à mistura contínua entre o meio “novo” alimentado constantemente neste período e o meio “velho” alimentado antes de se iniciar a recirculação. Porém, para os ácidos, a produção se assemelha a da estratégia em batelada, sendo mais rápida, e atingindo praticamente concentrações iguais das espécies livres. Sendo assim, a diluição dos ácidos provocada pela alimentação gradual foi irrelevante se comparada à alta taxa de produção dessas espécies no processo fermentativo. Percebe-se, pela Figura 52, que o pico foi atingido apenas na última hora de ciclo, ( $603 \pm 20$ ) mg·L<sup>-1</sup> para os ácidos totais, mas que o aumento na concentração se dá de maneira abrupta a partir nas duas últimas horas de ciclo. Logo, pode-se concluir que a partir da 4<sup>a</sup> hora, as BRS incompletas devem ter sido favorecidas por uma

menor concentração de ácido butírico em solução, se comparada à fase I-B, acelerando o processo de sulfetogênese e, conseqüentemente, contribuindo para um pequeno acréscimo, mas, exponencial na concentração do ácido acético. Da mesma forma que na fase I-B, o acúmulo de ácidos mostra um desbalanceamento variável nas rotas metabólicas acessadas durante o ciclo, com as acidogênicas ainda prevalecendo sobre as BRS.

Já na fase III-B, notou-se um comportamento mais achatado na produção dos ácidos, sem picos extremos, com concentrações praticamente constantes para o ácido butírico e acético ao longo das 4 horas de batelada alimentada. Atentando-se à variação do sulfato na Figura 51, observou-se praticamente a mesma tendência que os ácidos na 1ª hora de operação, porém, a partir dali, a taxa de consumo dessa molécula inorgânica foi constante até o final do ciclo. Com isso, em apenas 4 horas de operação, atingiu-se uma redução de 43% da concentração inicial de sulfato, valor alcançado apenas no final dos perfis para as fases I-B e II-B. Isso prova que o enchimento em 4 horas, foi fundamental para a estabilidade inicial da concentração de ácidos, garantindo praticamente quase que nenhuma variação na concentração à medida que se alimentava o reator, o que amenizou o efeito inibitivo e promoveu a sulfetogênese e as outras etapas da digestão anaeróbia de maneira mais balanceada.

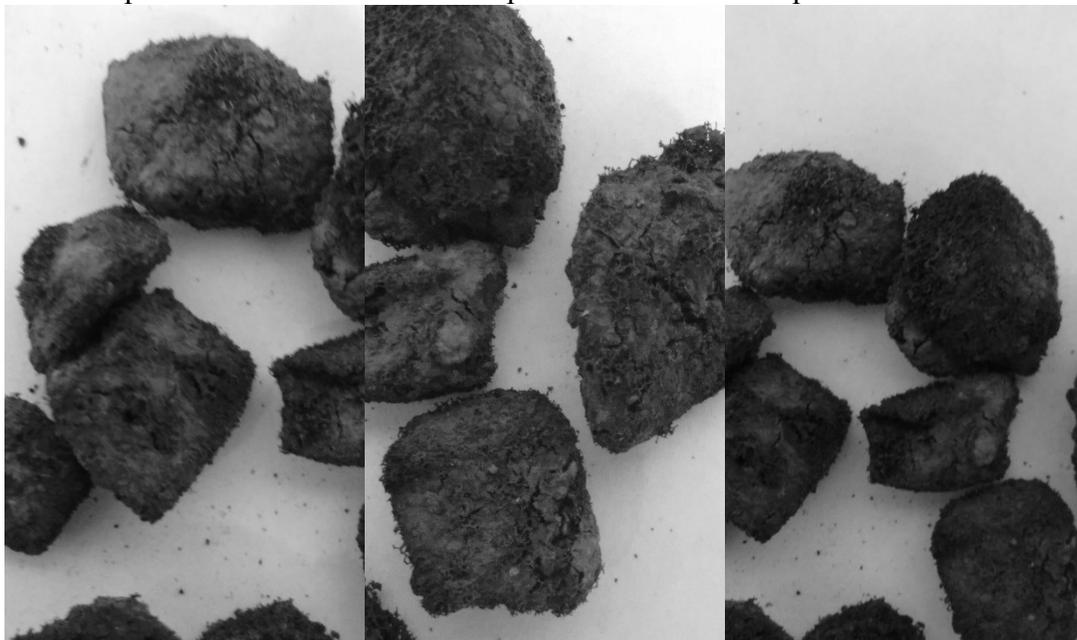
Além disso, como outra hipótese, as 4 horas de alimentação gradativa com DASM fresca podem ser responsáveis por disponibilizar a matriz carbonácea mais complexa por mais tempo, se comparada às outras estratégias, o que, provavelmente, atenua a competição entre BRS e acetogênicas, possibilitando maior direcionamento de “elétrons” para a rota sulfetogênica. Em outras palavras, pode-se dizer que o prolongamento da A:M, mantendo-a próxima da razão inicial, auxiliou a atividade das BRS.

Figura 53 - Perfis temporais de  $\text{Fe}^{2+}$  e STD para cada fase da condição B

Fonte: Do autor.

Pela Figura 53, fica relatado que o consumo do  $\text{Fe}^{2+}$  ao longo da condição B difere do consumo obtido nos perfis da condição A. Mesmo evidenciando taxa de variações levemente acentuadas no início do ciclo das fases II-B e III-B, a partir do momento em que o reator é preenchido com o volume total de operação, o decaimento aparente se dá de maneira constante. Portanto, surge a hipótese de que o mecanismo de remoção por precipitação, ainda existente nessas fases, é menos influente na remoção do metal, já que também, o pH é ligeiramente menor na condição B, contribuindo para uma ainda menor disponibilidade de  $\text{HS}^-$ . Isso deve ter favorecido a precipitação dos sulfetos metálicos menos solúveis,  $\text{CuS}$  com  $k_{\text{PS}}$  equivalente à  $10^{-37}$  e  $\text{ZnS}$  com  $k_{\text{PS}}$  equivalente à  $10^{-23}$ . Além disso, o mecanismo de adsorção de  $\text{Fe}^{2+}$  no conjunto material suporte e biomassa também pode ter acontecido da mesma maneira que em (Pereira, 2017). Algumas espumas foram retiradas do leito e mantidas, por 5 dias, dentro da câmara climatizada (30 °C) e ventilada. Como relatado na Figura 54, observou-se a formação de uma coloração alaranjada na superfície da espuma, que, provavelmente, corresponde aos íons  $\text{Fe}^{2+}$  e sulfetos metálicos ali adsorvidos durante a operação do AnSBBR e oxidados após o contato contínuo com o oxigênio atmosférico.

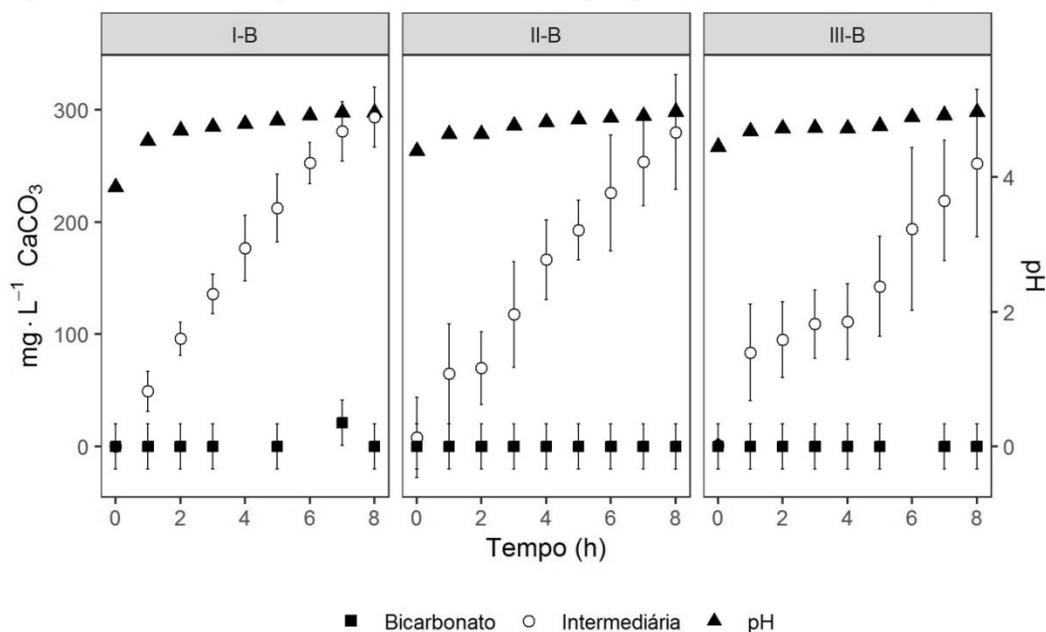
Figura 54 - Espécies oxidadas de ferro na superfície do material suporte retirado na fase I-B



Fonte: Do autor.

A Figura 55 mostra o consumo total da alcalinidade a bicarbonato em todas as estratégias de alimentação adotadas, bem como, as pequenas variações de pH durante a operação do AnSBBR na condição B.

Figura 55 - Perfis temporais de alcalinidade e pH para cada fase da condição B



Fonte: Do autor.

Na tentativa de verificar quais rotas foram realmente significativas para o desempenho do AnSBBR na condição I-B, o modelo II foi ajustado aos dados experimentais e a estimativa dos parâmetros significativos para o modelo estão demonstrados na Tabela 17:

Tabela 17 - Estimativa dos parâmetros do modelo II ajustado aos dados dos perfis temporais das espécies  $DQO_{MO_2}$ ,  $SO_4^{2-}$  e Acetato para a fase I-B

Parâmetros	Rotas	Estimativa $\pm$ Erro padrão	p-valor
$k_1$ ( $h^{-1}$ )	Hidrólise/Acidogênese/Acetogênese	$(3 \cdot 10^{-1} \pm 2 \cdot 10^{-2})$	$10^{-16}$
$k_3$ ( $L \cdot mg^{-1} \cdot h^{-1}$ )	Sulfetogênese completa por $MO_{CL}$	$(8 \cdot 10^{-4} \pm 1 \cdot 10^{-4})$	0,001
$k_5$ ( $h^{-1}$ )	Metanogênese	$(7 \cdot 10^{-2} \pm 3 \cdot 10^{-2})$	0,02

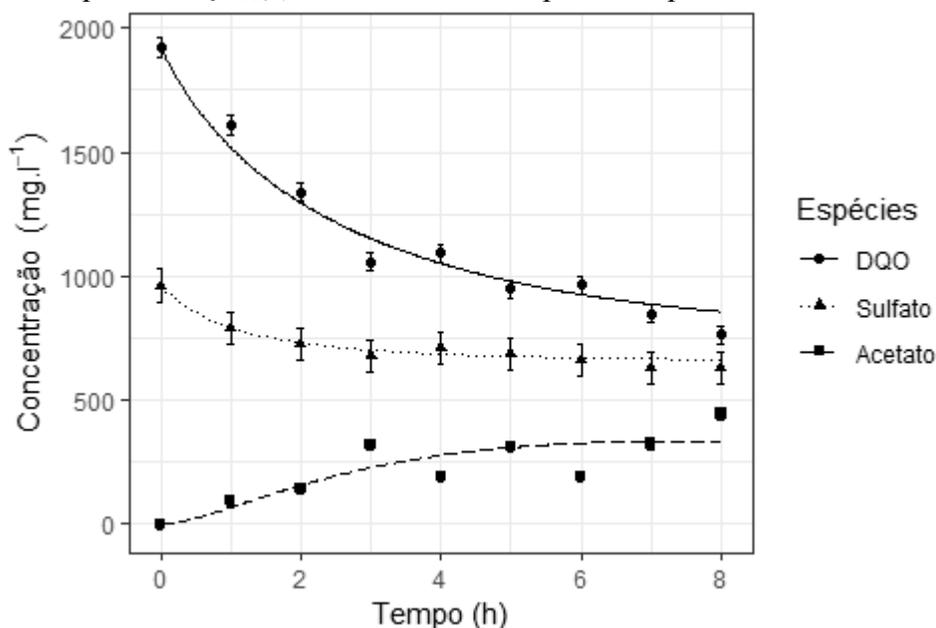
Fonte: Do autor.

O modelo auxilia na confirmação da predominância das arqueias metanogênicas e bactérias acidogênicas/acetogênicas frente a comunidade de BRS, como já esperado e discutido nessa seção. Pode-se dizer que a carga orgânica de  $3,0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$  foi tão favorável para o crescimento do conjunto de bactérias fermentativas, que a constante cinética dessa rota na condição B foi da ordem de 10 vezes maior que na condição preliminar, carga de  $1,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$ . A comparação entre as constantes cinéticas da sulfetogênese destas fases (I-B e preliminar) fornece a mesma ordem de grandeza, o que explicaria a proximidade entre as CSR. Portanto, pode-se concluir que a competição por substrato na fase I-B apenas impediu as BRS de atingirem um rendimento máximo. Com relação às metanogênicas, a atividade se equipara a das fermentativas, destacando-se como rota principal para a mineralização total da matéria orgânica.

Outro comportamento curioso que poderia explicar a resistência das sensíveis arqueias metanogênicas às condições extremas do meio seria uma estratificação da microbiota presente no biofilme. A idéia é que as bactérias adaptadas as altas concentrações de substratos se alocairiam na parte superficial do filme formado, protegendo, estéricamente, os microrganismos mais sensíveis, que se localizariam num nível mais profundo. Além da proteção física, criada também pela deposição de sulfetos metálicos, um gradiente de concentração para todos os substratos seria formado, possibilitando a chegada de menores concentrações das moléculas prejudiciais às últimas camadas. É claro que para confirmação dessa hipótese, seria necessário a realização de técnicas de biologia molecular, na tentativa de detectar arqueias da espécie *Methanosaetaceae* e *Methanosarcina* (DEMIREL; SCHERER, 2008).

A Figura 56 demonstra o resultado da solução das EDOs presentes no modelo, levando em consideração os parâmetros estimados.

Figura 56 - Comportamento experimental e comportamento teórico predito pelo modelo II das espécies  $DQO_{MO}$ ,  $SO_4^{2-}$  e Acetato no perfil temporal da fase I-B



Fonte: Do autor.

Os ajustes para batelada alimentada não foram realizados.

#### 5.2.4.2 Aspectos principais

A seguir tem-se alguns tópicos relatando os principais acontecimentos e comportamentos que influenciaram o desempenho do sistema na condição B:

- O aumento da carga orgânica aplicada provocou a imposição das acidogênicas/acetogênicas e AMA como microrganismos principais da digestão anaeróbia nas fases I-B e II-B, dificultando o alcance de um rendimento ótimo da atividade sulfetogênica nessas fases;
- As BRS alocadas na superfície do material suporte podem ter sido mais afetadas pela toxicidade dos ácidos orgânicos voláteis existentes na fase livre, contribuindo, de certa forma, para um aumento na inibição da sulfetogênese;
- A pequena variação do pH de entrada foi mais influenciada pelo excesso de ácidos orgânicos voláteis produzidos na fermentação, consumindo toda alcalinidade a

bicarbonato gerada pela sulfetogênese, do que pela geração de íons  $H^+$  no meio decorrente da precipitação de sulfetos metálicos;

- A adsorção de metais em superfícies sólidas pode ter contribuído de uma maneira maior para a remoção de metais nessa condição do que na condição A;
- A resistência à transferência de massa interna e externa ainda devia existir na condição B visto a taxa de consumo constante das moléculas de sulfato durante o perfil, indicando limitação da velocidade global de reação;
- A adoção da estratégia de alimentação mais gradual (batelada alimentada de 4 horas) foi capaz de suavizar a produção de ácidos ao longo do ciclo, amenizando os efeitos inibitórios e disponibilizando o substrato orgânico, de uma maneira geral, por um intervalo de tempo maior, garantindo o melhor desempenho, em termos de remoção de sulfato, do AnSBBR na condição B;
- A alimentação de 2 horas não surtiu efeitos positivos no desempenho do reator, se equiparando a condição de batelada (alimentação em 10 minutos).

### 5.2.5 Condição C

A média dos principais parâmetros monitorados para a condição em que a carga teórica aplicada de  $SO_4^{2-}$  foi de  $4,5 \text{ g.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$  está apresentada abaixo. De uma maneira geral, a eficiência de remoção da DQO e de sulfato atingiram valores inesperados, se levar em consideração que o aumento de carga orgânica aplicada foi bastante prejudicial na transição entre as condições A e B. Como na condição C, a relação DQO/ $SO_4^{2-}$  ainda foi mantida em 2, a carga orgânica aplicada também dobrou, o que acarretaria num maior acúmulo de ácidos, se comparado com as condições anteriores, e uma maior possibilidade de falência do sistema. Porém, com esses valores médios de eficiência de remoção, retratados na Tabela 18, as maiores cargas removidas, tanto de  $SO_4^{2-}$  quanto de DQO, foram alcançadas, dando indícios de que os fenômenos inibitórios foram menos atuantes na condição C que na condição B. Talvez, os microorganismos tenham se adaptado às condições ácidas com altas concentrações dos ácidos orgânicos e sulfídricos com o maior tempo de operação, já que a condição C foi a última condição a ser estudada. O pH de final de ciclo manteve-se na mesma região que nas outras condições, sendo um pouco menor na fase I-C, indicando, mais uma vez, na aniquilação da maior parte das moléculas de bicarbonatos produzidas pela sulfetogênese. É

provável também que a diferença entre a atividade das fermentativas e das BRS tenha se atenuado nesta última condição.

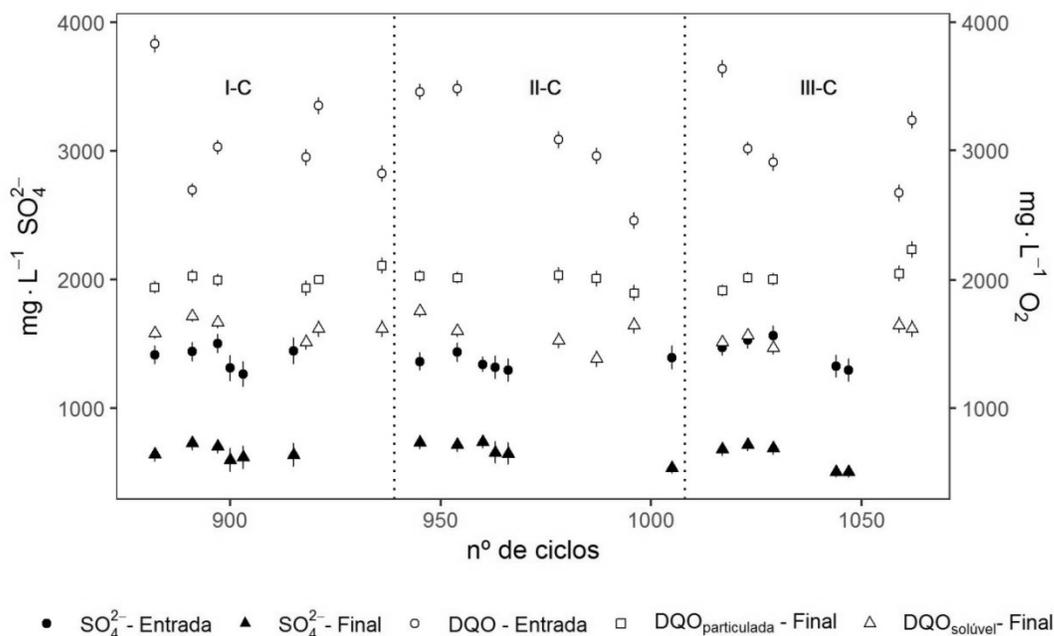
Tabela 18 - Variáveis monitoradas ao longo da condição C

Parâmetros	I-C	II-C	III-C
COA (mgDQO.L <sup>-1</sup> .dia <sup>-1</sup> )	9,3±1,3 <sup>(6)</sup>	9,3±1,3 <sup>(5)</sup>	9,3±1,2 <sup>(5)</sup>
COR (mgDQO.L <sup>-1</sup> .dia <sup>-1</sup> )	4,5±1,4	4,5±1,5	4,6±1,3
ε <sub>DQO</sub> (%)	47±8	48±8	49±8
CSA (mgSO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> .L <sup>-1</sup> .dia <sup>-1</sup> )	4,08±0,22 <sup>(6)</sup>	4,02±0,14 <sup>(6)</sup>	4,1±0,3 <sup>(5)</sup>
CSR (mgSO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> .L <sup>-1</sup> .dia <sup>-1</sup> )	2,17±0,18	2,06±0,29	2,40±0,14
ε <sub>SO<sub>4</sub><sup>2-</sup></sub> (%)	53±3	51±8	57±7
pH <sub>entrada</sub>	3,15 <sup>(3)</sup>	3,23 <sup>(2)</sup>	3,17 <sup>(3)</sup>
pH <sub>final</sub>	4,72	5,04	5,12
STD <sub>não filtrada</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	166±15 <sup>(6)</sup>	162±18 <sup>(5)</sup>	156±23 <sup>(5)</sup>
STD <sub>filtrada</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	141±20	130±27	137±16
Alcalinidade <sub>total</sub> (mgCaCO <sub>3</sub> .L <sup>-1</sup> )	241±30 <sup>(6)</sup>	482±121 <sup>(5)</sup>	412±57 <sup>(5)</sup>

Fonte: Do autor.

Pela Figura 57 verifica-se que a DQO de entrada esteve, na maioria das vezes, acima do valor teórico pré-estabelecido de 3000 mg.L<sup>-1</sup>. Como já comentado, o pH ácido do meio de entrada e a alta força iônica da DASM contribuem no processo de coagulação das proteínas do soro de leite, se que sedimentam no fundo do recipiente utilizado para armazenamento do meio e retiram parcela da DQO solúvel. Porém, ao aumentar a concentração de matéria orgânica na última condição, mais rápido se deu a formação do coagulado preenchendo praticamente todo o volume da DASM. Sendo assim, os pontos de entrada acima dos 3000 mg.L<sup>-1</sup> referem-se as análises feitas quando o meio apresentou alto teor desses sólidos orgânicos. Aparentemente, essa extrapolação na DQO de entrada não deve ter afetado o desempenho do reator, visto a proximidade das concentrações de saída de sulfato e DQO ao decorrer dos ciclos. A diferença entre a DQO não filtrada e filtrada no final do ciclo foi maior aqui do que nas outras condições. Além do aporte de sólidos do módulo receptor ser parcela dessa maior DQO residual, a alimentação do reator com uma maior concentração das proteínas coaguladas poderia ser um dos motivos do incremento na diferença. Porém, para os pontos com DQO acima de 3000 mg.L<sup>-1</sup>, a variação da matéria orgânica não filtrada e filtrada é a mesma que os pontos com valores de DQO de entrada adequados. Então, o aporte de sólidos, nessa condição, foi o principal fator que contribuiu para aumento da DQO particulada final.

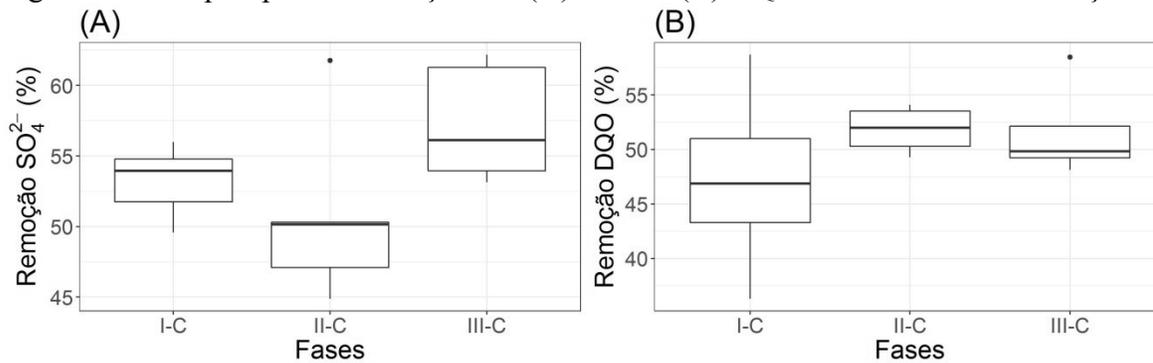
Figura 57 - Variação da DQO e das concentrações de  $\text{SO}_4^{2-}$  em cada fase da condição C



Fonte: Do autor.

Ao considerar as variações de remoções em cada estratégia de alimentação, o teste ANOVA de um fator fornece um p-valor de 0,07, maior que o nível de significância adotado até aqui. Portanto, pode-se dizer que os diferentes tipos de enchimento aplicados remetem à mesma eficiência média de remoção de sulfato. A mesma ferramenta estatística é utilizada para comparar as eficiências médias de DQO em cada fase, e o resultado obtido, p-valor de 0,566, garante que não há diferença significativa na remoção de matéria orgânica entre as estratégias de alimentação adotadas. A Figura 58 mostra essa dispersão de DQO e  $\text{SO}_4^{2-}$ :

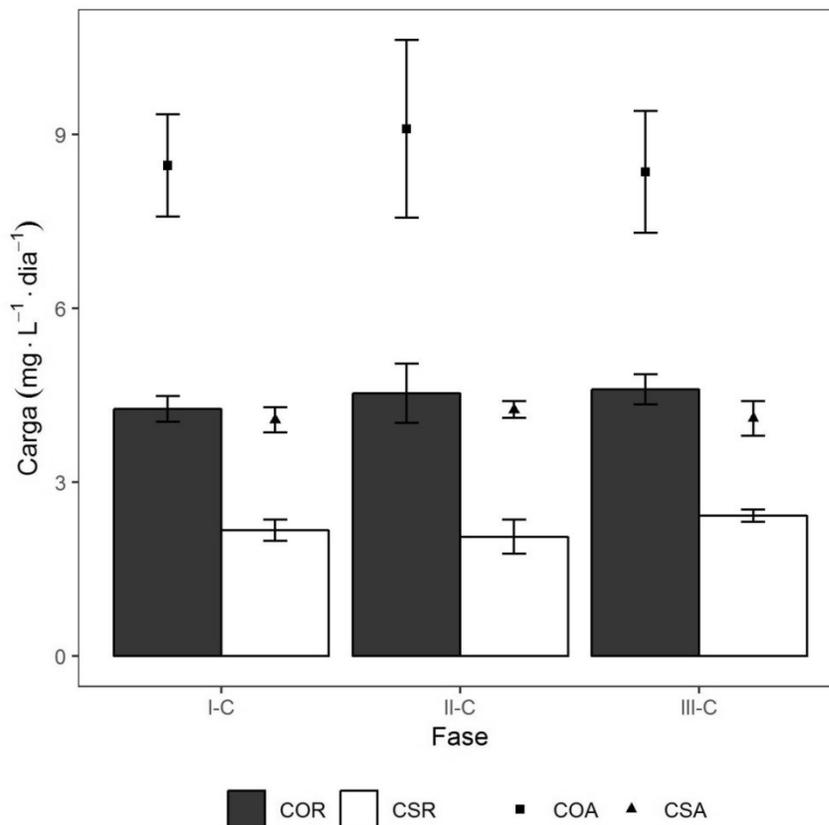
Figura 58 - Boxplot para as remoções de (A)  $\text{SO}_4^{2-}$  e (B) DQO em cada fase da condição C



Fonte: Do autor.

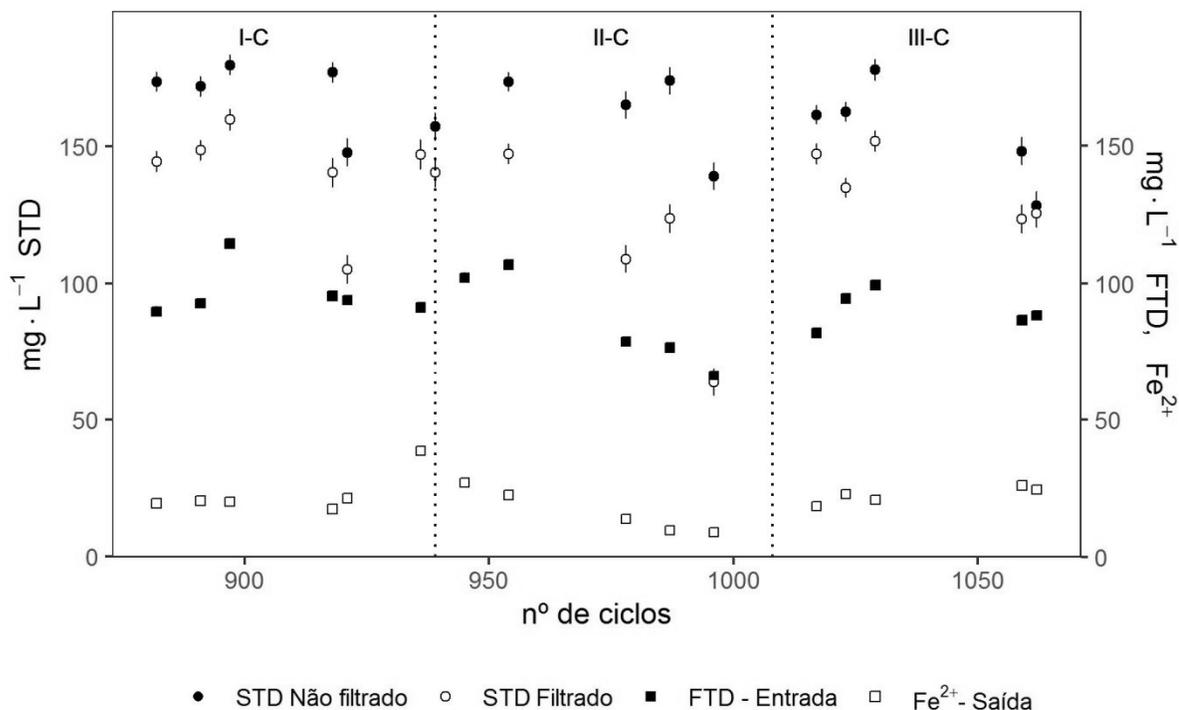
A maior dispersão de eficiência de remoção para DQO na fase I-C pode estar associada ao tempo necessário de adaptação do consórcio microbiano à maior carga aplicada de matéria orgânica no início da nova condição estudada. O outlier presente no Boxplot da fase III-C refere-se a um ponto coletado de um meio mais envelhecido da DASM com alto teor de sólidos orgânicos. Com relação ao Boxplot da eficiência de remoção de  $\text{SO}_4^{2-}$ , a fase II-C aparenta ser a menor, nesse quesito, visto a predominância de remoções abaixo dos 50%. Pode-se dizer que o outlier presente equipara esta fase com as outras, em que o consumo de sulfato apresenta flutuações dentro da mesma faixa de percentagem. Dessa forma, o ideal seria realizar a retirada do outlier para efeito de comparação, o que, provavelmente, colocaria a fase II-C como a mais ineficaz no parâmetro analisado. Porém, ao realizar o perfil de alcalinidade e pH na fase aqui citada, relatou-se uma melhora de desempenho, com pH no final de ciclo alcançando valores aproximadamente iguais a 5,3, optando-se por realizar mais um último perfil de sulfato antes da mudança de fase. Coincidentemente, o aumento no pH estava realmente vinculado com a maior atividade da sulfetogênese, já que a concentração de  $\text{SO}_4^{2-}$  de saída atingiu valores 20% menores que os valores registrados na primeira triplicata do perfil. Isso tudo mantendo a mesma vazão de recirculação do projeto. Logo, acredita-se que a atividade ótima dos microorganismos alocados no leito, levando a repetitividade na performance do AnSBBR, aconteceu de maneira mais tardia, demorando 21 ciclos, se comparado com as outras fases, e o primeiro monitoramento do perfil de sulfato, com menores performances, foi realizado durante um regime transiente. Por isso, o valor médio de remoção de sulfato,  $(51 \pm 8)\%$ , registrado na Tabela 18, contabiliza também as concentrações da falsa repetitividade do AnSBBR. O real valor deve ser ligeiramente maior. Ao verificar essa maior demora pra se atingir a repetitividade da resposta, na fase III-C, esperou-se 25 ciclos para início do perfil. Apesar das remoções médias de  $\text{SO}_4^{2-}$  serem estatisticamente iguais, a oscilação da eficiência de remoção se encontra mais próxima dos 60% em grande parte do tempo. Ao analisar o comportamento das cargas aplicadas, essa tendência também fica evidente. Pela Figura 59, assim como na condição B, na batelada de 4 horas, além de existir uma tendência para maior atividade das BRS frente às outras fases, o AnSBBR começa a apresentar características de robustez, haja vista a pequena oscilação das CSR comparada às outras fases.

Figura 59 - COA, CSA, COR e CSR em cada fase da condição C



Fonte: Do autor.

A relação entre a COR e CSR para todas as fases é praticamente a mesma, o que pode ser relato de uma atividade simultânea entre BRS e AMA. Dentre todas as situações estudadas, as maiores CSR são encontradas nessa condição, com  $(2,3 \pm 0,2) \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$ ,  $(2,0 \pm 0,3) \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$  e  $(2,4 \pm 0,1) \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$  para as fases I-C, II-C e III-C, respectivamente. De uma maneira geral, a aplicação de diferentes estratégias de alimentação pouco influenciou o desempenho do reator em termos de degradação de matéria orgânica e redução de  $\text{SO}_4^{2-}$ .

Figura 60 - Variação das concentrações de FTD,  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{H}_2\text{S}$  em cada fase da condição C

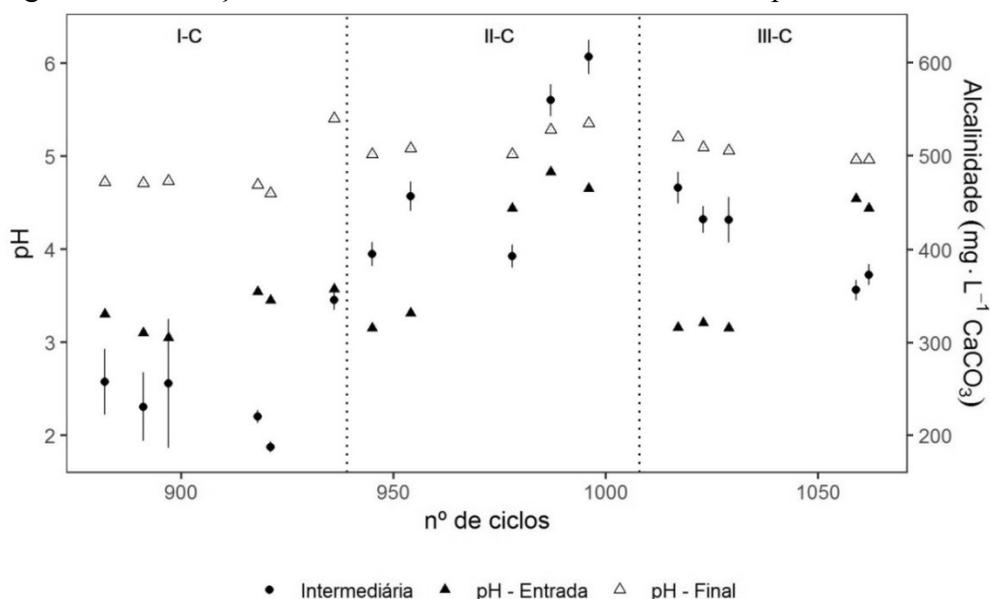
Fonte: Do autor.

Como esperado, a maior carga removida de sulfato na condição, provocou um maior acúmulo de  $\text{H}_2\text{S}$  em solução, com valores, para amostras filtradas, indo de  $(105 \pm 5) \text{ mg.L}^{-1}$  a  $(160 \pm 5) \text{ mg.L}^{-1}$  na fase I-C, de  $(109 \pm 4) \text{ mg.L}^{-1}$  a  $(147 \pm 5) \text{ mg.L}^{-1}$  na fase II-C e de  $(123 \pm 5) \text{ mg.L}^{-1}$  a  $(152 \pm 4) \text{ mg.L}^{-1}$  na fase III-C. O  $\text{Fe}^{2+}$  atingiu os maiores valores de remoção na fase II-C, com mínimo de  $(74 \pm 2)\%$  e máximo de  $(87 \pm 1)\%$ . Este último registrado após a melhora do sistema, vinculado, possivelmente, ao aumento do pH, o que pode ter beneficiado a precipitação físico-química com o sulfeto disponível. Assim como na condição B, isso é um forte indício de que o fator limitante na precipitação dos sulfetos metálicos deve ter sido a concentração de  $\text{H}^+$ , visto o excesso frequente de moléculas de sulfeto durante a condição C. Nas fases I-C e II-C, com os menores valores de pH, relataram-se as maiores variações de remoções, indo de  $(64 \pm 1)\%$  até  $(82 \pm 2)\%$  e de  $(70 \pm 1)\%$  até  $(79 \pm 2)\%$ , respectivamente, sugerindo a participação de outros mecanismos na retirada do íon ferroso da fase líquida. Apesar do predomínio das maiores remoções na fase II-C, se considerarmos as análises feitas a partir da “estabilização” do AnSBBR, a remoção média de ferro não apresentou diferença significativa entre as fases, já que o p-valor obtido pela ANOVA de um fator foi de 0,167.

As flutuações de pH e alcalinidade seguem representadas na Figura 61. A variação do pH entre as fases foi pequena, mas suficiente pra influenciar de maneira diferente na remoção do  $\text{Fe}^{2+}$ . Mais uma vez, a pequena diferença entre pH de início e final de ciclo deve estar

relacionada com o acúmulo de ácidos no sistema, retratado pelos altos valores de alcalinidade intermediária, que nas situações II-C e III-C, se mantiveram na faixa entre 400 mg.L<sup>-1</sup> e 600 mg.L<sup>-1</sup> após estabilização do AnSBBR. Na fase I-C, que teoricamente, deveria ter o maior acúmulo de ácidos, os valores de alcalinidade intermediária foram menores. Como as análises de ácidos orgânicos em cromatografia gasosa ainda não foram feitas, acredita-se que, devido à problemas, tardiamente corrigidos, com o eletrodo do pHmetro, a sonda operou danificada por um período, diminuindo a precisão das medidas. Porém, essa afirmação é apenas uma hipótese, e será testada após a realização das injeções no cromatógrafo gasoso. De qualquer forma, acredita-se que, assim como na condição B, toda alcalinidade a bicarbonato produzida pela sulfetogênese reagiu com os ácidos acumulados, restringindo variações mais consideráveis no potencial hidrogeniônico.

Figura 61 - Variação da alcalinidade ao final dos ciclos e do pH em cada fase da condição C



Fonte: Do autor.

### 5.2.5.1 Perfis temporais

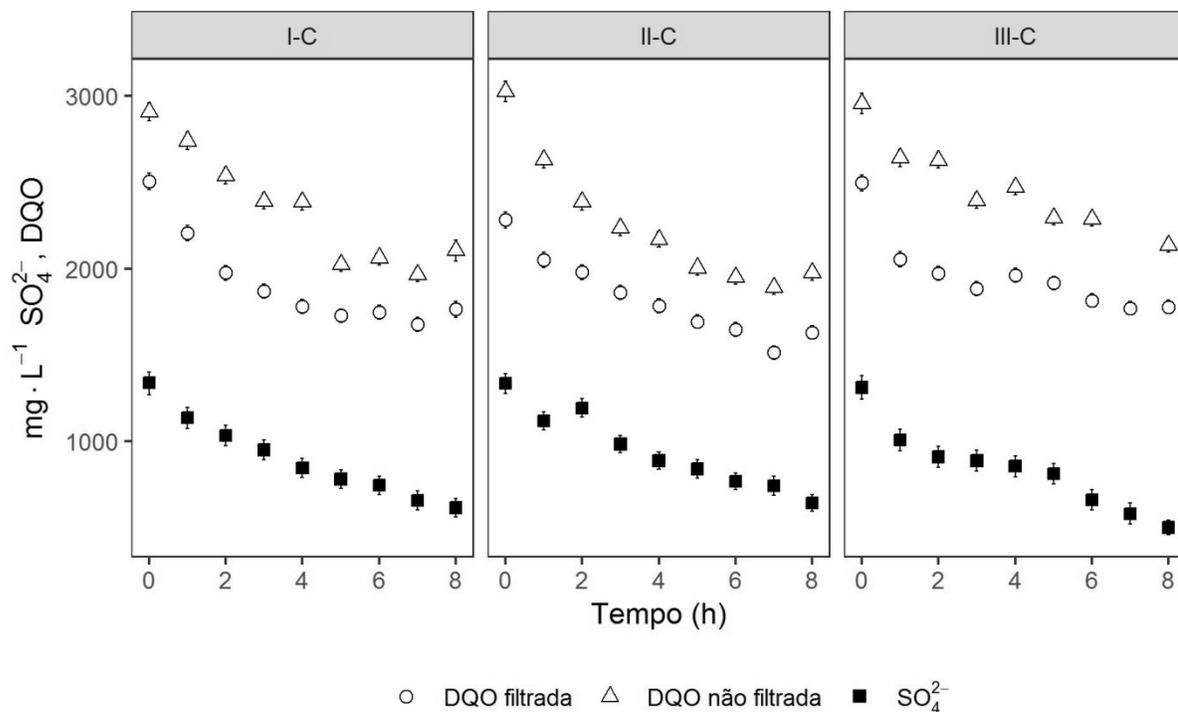
Os perfis cinéticos para todas as estratégias de alimentação da condição C estão representados nas Figuras 62, 63 e 64. Novamente, a taxa de variação do sulfato é praticamente constante a partir do momento que o AnSBBR opera com volume total de trabalho. O efeito da mudança na estratégia de alimentação faz com que as curvas do consumo de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> sejam diferentes, apesar de o resultado final ser idêntico para as três alternativas. Portanto, em todas as situações, têm-se comportamento bem parecido com aquele

que representa a saturação da atividade microbiana, sugerindo que os mesmos fatores limitantes, citados nas condições anteriores, estiveram presentes na última condição estudada. Dessa forma, a variação da estratégia de alimentação foi pouco efetiva na tentativa de modificar, pra melhor, o desempenho do AnSBBR com relação ao consumo de sulfato. Porém, se comparada com a condição B, a quantidade mássica removida por ciclo foi maior, indicando que o consórcio microbiano devia estar mais adaptado às condições operacionais impostas.

Da Figura 62, relata-se que a curva do perfil de sulfato para a batelada alimentada de 4 horas é bem semelhante aos registrados nas condições A e B. A variação é mais acentuada na 1ª hora de ciclo, atenuando-se ao longo das 3 horas restantes até o volume atingir a capacidade máxima. Esse impacto da alimentação gradual também é visto, de maneira bem nítida, nos perfis do  $\text{Fe}^{2+}$ , do sulfeto e da alcalinidade intermediária. Analisando a curva deste último parâmetro, mesmo ainda não sabendo as concentrações de ácidos pra cada amostra coletado, é bem provável que, na fase III-C, tenha existido uma maior suavização no acúmulo dessas espécies orgânicas, mas tal característica não deve ter sido suficiente para amenizar a inibição a fim de acelerar a sulfetogênese.

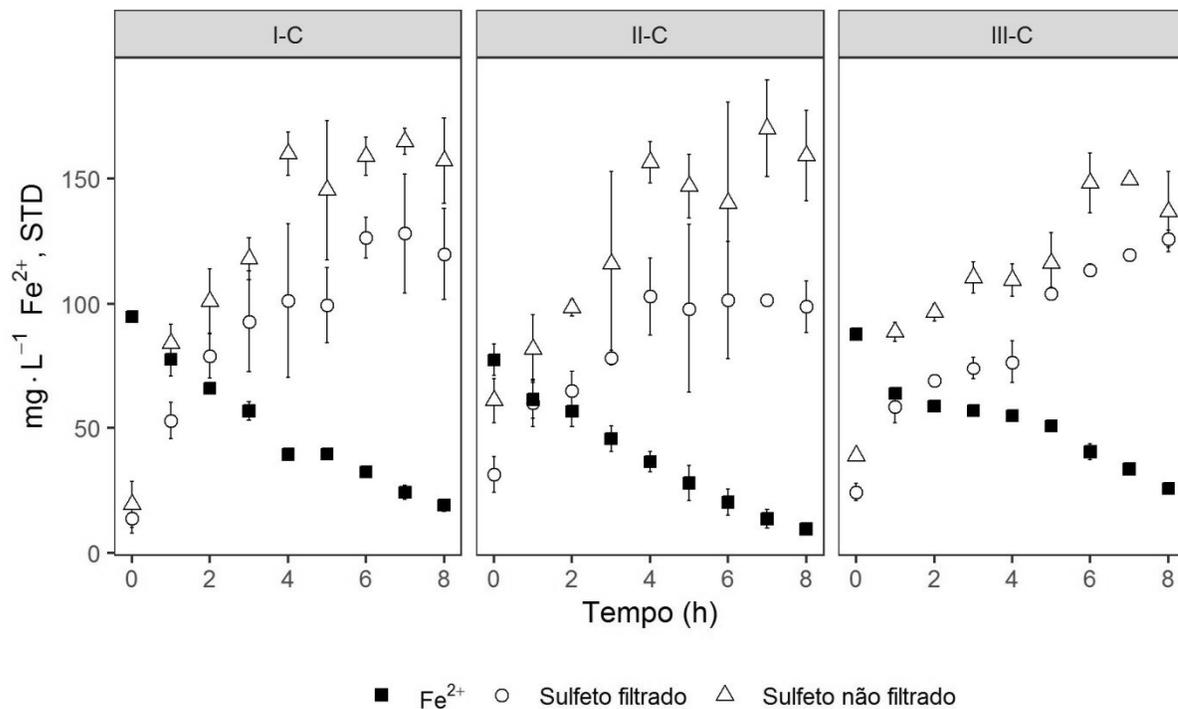
A queda das concentrações de  $\text{Fe}^{2+}$  também se dá de maneira praticamente constante, com curvas relembrando o comportamento da condição B. Acredita-se, então que, o mecanismo predominante na remoção de  $\text{Fe}^{2+}$  tenha sido o mesmo atuante naquela condição, com uma maior parcela de contribuição da precipitação físico-química, graças a valores ligeiramente maiores de pH. Veja, na Figura 63, como, pelo menos para o perfil, a concentração de saída do metal é menor frente às outras estratégias de alimentação, o que deve estar relacionado com os maiores pH do perfil médio da fase II-C.

Figura 62 - Perfis temporais de  $\text{SO}_4^{2-}$  e DQO para cada fase na condição C



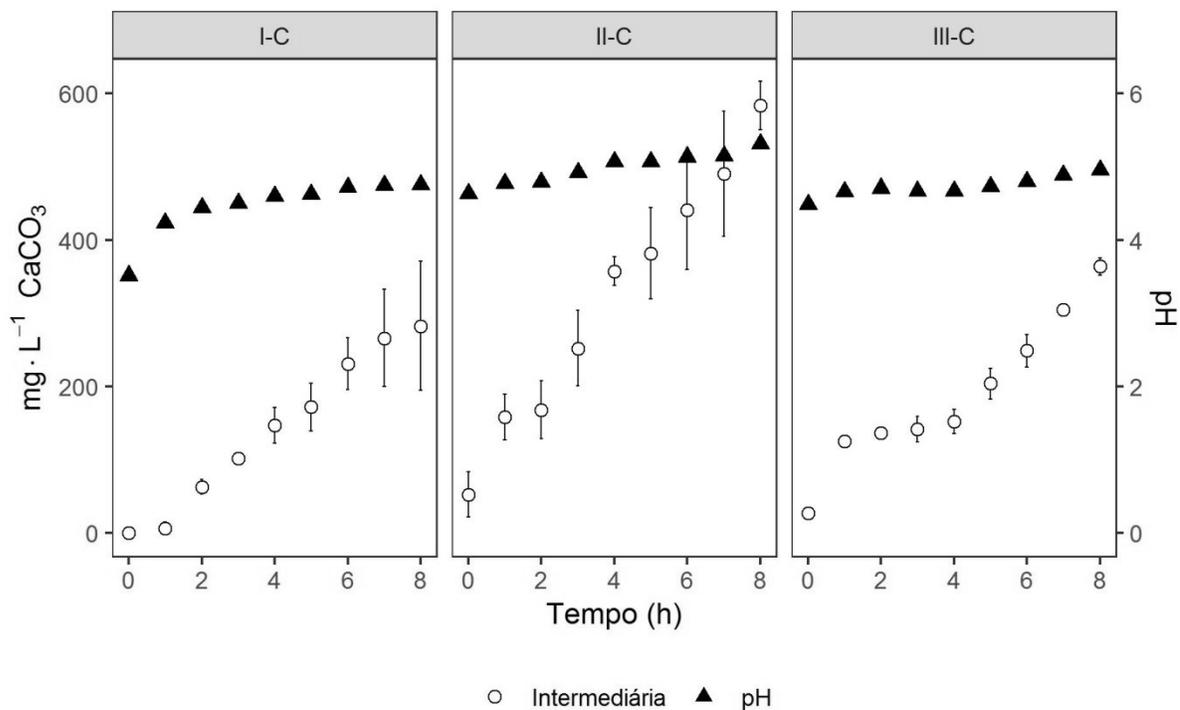
Fonte: Do autor.

Figura 63 - Perfis temporais de  $\text{Fe}^{2+}$  e STD para cada fase na condição C



Fonte: Do autor.

Figura 64 - Perfis temporais de pH e alcalinidade intermediária para cada fase na condição C



Fonte: Do autor.

Os ajustes cinéticos não foram feitos nessa condição, pelo fato do Cromatógrafo Gasoso apresentar problemas operacionais, e impossibilitar a análise dos ácidos orgânicos voláteis restantes. Outra forma de quantificação seria a análise titulométrica. Porém, ela foi dispensada ao longo da operação devido ao fato das concentrações significativas de  $\text{Fe}^{2+}$  nas amostras de saída interferirem na quantificação exata da acidez. A partir do pH 6,0, o íon ferroso existente precipitava como hidróxido, diminuindo o pH da amostra assim que a base titulante era adicionada, causando uma instabilidade contínua no pH medido.

### 5.2.5.2 Aspectos principais

A seguir tem-se alguns tópicos relatando os principais acontecimentos e comportamentos que influenciaram o desempenho do sistema na condição C:

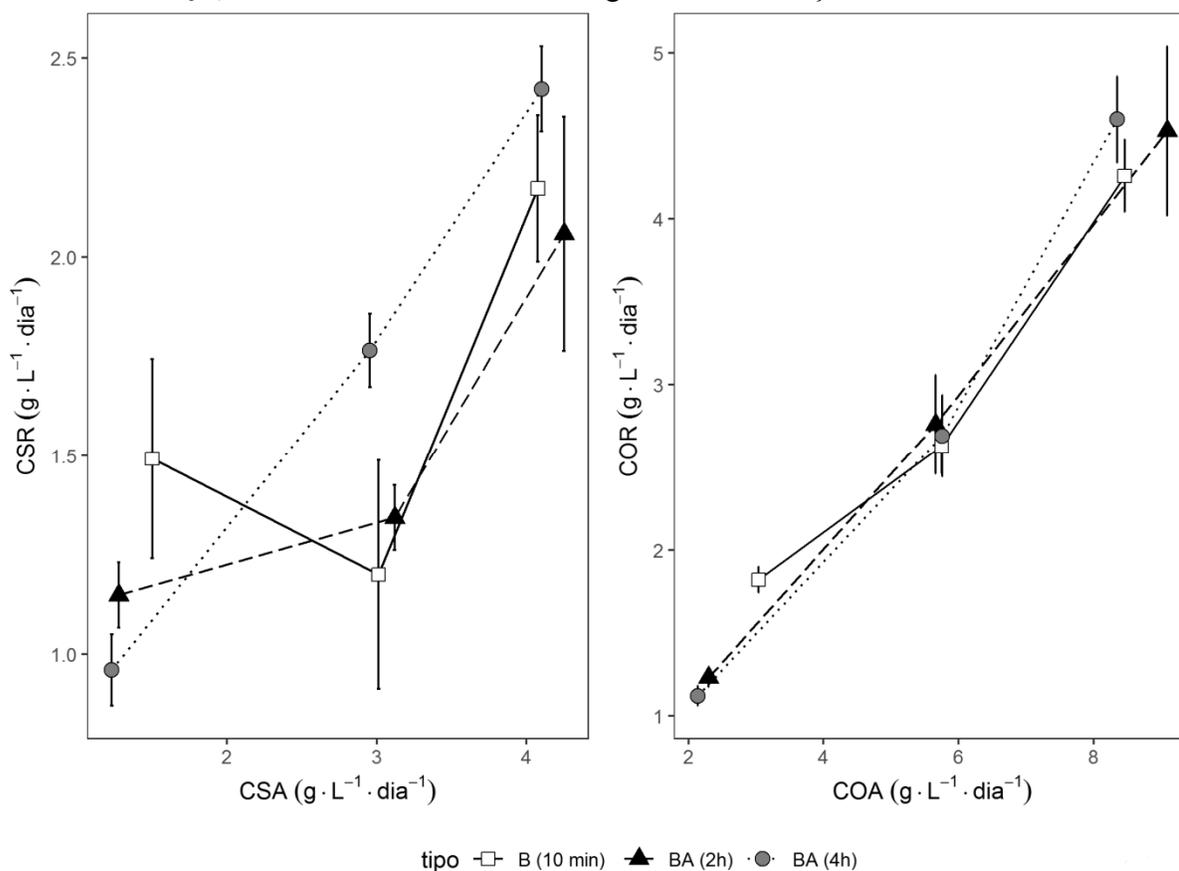
- As maiores cargas removidas de  $\text{SO}_4^{2-}$  e DQO foram alcançadas na condição C, indicando, possivelmente, uma maior adaptação do consórcio microbiano às condições extremas da drenagem ao decorrer desse um ano de operação;
- A taxa de consumo de  $\text{SO}_4^{2-}$  e  $\text{Fe}^{2+}$  foi constante para todas as técnicas de carregamento utilizadas, demonstrando a presença, mais uma vez, de fenômenos inibitórios que limitaram a velocidade das reações bioquímicas e físico-química;

- A mudança da estratégia de alimentação não provocou efeitos significativos no desempenho do reator, visto as mesmas eficiência de remoção de  $\text{SO}_4^{2-}$  e DQO em todas as situações aqui estudadas;
- As análises de ácidos ainda não foram efetuadas, mas tudo leva a crer, pela alta alcalinidade apresentada, que houve um acúmulo de ácidos orgânicos ao longo do ciclo, provando a existência de diferentes atividades entre as BRS e as AMA, juntamente com a manutenção da taxa acelerada de degradação das matrizes orgânicas complexas pelas acidogênicas.

### 5.2.6 Comparação geral

A fim de facilitar o entendimento do desempenho do arranjo configuracional de reator testado para o tratamento de DASM, a Figura 65 e as Tabelas 19 e 20 mostram os principais parâmetros relacionados à operação do AnSBBR ao longo de todas as situações estudadas:

Figura 65 - Variação das cargas removidas de acordo com as cargas aplicadas, para  $\text{SO}_4^{2-}$  e DQO, considerando ainda as estratégias de alimentação adotadas



Fonte: Do autor.

Tabela 19 - Média das cargas aplicadas, removidas e eficiências de remoção para  $\text{SO}_4^{2-}$  e DQO relacionadas a cada fase estudada

Fase	Estratégia	CSA (g.L <sup>-1</sup> .dia <sup>-1</sup> )	CSR (g.L <sup>-1</sup> .dia <sup>-1</sup> )	$\epsilon_{\text{SO}_4^{2-}}$ (%)	COA (g.L <sup>-1</sup> .dia <sup>-1</sup> )	COR (g.L <sup>-1</sup> .dia <sup>-1</sup> )	$\epsilon_{\text{DQO}}$ (%)
I-A	B	(1,9±0,6)	(1,8±0,3)	(97±1)	(3,04±0,17)	(1,82±0,80)	(61±2)
II-A	BA (2h)	(1,28±0,08)	(1,15±0,08)	(90±3)	(2,30±0,06)	(1,23±0,06)	(54±3)
III-A	BA (4h)	(1,23±0,09)	(0,96±0,09)	(77±3)	(2,14±0,14)	(1,12±0,06)	(52±3)
I-B	B	(3,0±0,2)	(1,2±0,3)	(40±8)	(5,7±0,6)	(2,6±0,2)	(46±5)
II-B	BA (2h)	(3,1±0,4)	(1,38±0,08)	(42±6)	(5,7±0,2)	(2,8±0,3)	(49±4)
III-B	BA (4h)	(2,95±0,14)	(1,76±0,09)	(61±1)	(5,8±0,5)	(2,7±0,2)	(46±6)
I-C	B	(4,08±0,22)	(2,17±0,18)	(53±3)	(9,3±1,3)	(4,5±1,4)	(47±8)
II-C	BA (2h)	(4,02±0,14)	(2,06±0,29)	(51±8)	(9,3±1,3)	(4,5±1,5)	(48±8)
III-C	BA (4h)	(4,1±0,3)	(2,40±0,14)	(57±7)	(9,3±1,2)	(4,6±1,3)	(49±8)

Fonte: Do autor.

Tabela 20 – Média das concentrações de  $\text{FTD}_A$  e  $\text{Fe}^{2+}_R$  e eficiência de remoção de  $\text{Fe}^{2+}$

Fase	Estratégia	$\text{FTD}_A$ (mg.L <sup>-1</sup> )	$\text{Fe}^{2+}_R$ (mg.L <sup>-1</sup> )	$\epsilon_{\text{Fe}^{2+}}$ (%)
I-A	B	(97±8)	(3±2)	(97±2)
II-A	BA (2h)	(105±7)	(15±3)	(86±3)
III-A	BA (4h)	(92±13)	(20±5)	(79±4)
I-B	B	(91±7)	(22±7)	(76±3)
II-B	BA (2h)	(93±16)	(24±7)	(74±4)
III-B	BA (4h)	(100±10)	(35±5)	(65±3)
I-C	B	(99±16)	(20±3)	(80±4)
II-C	BA (2h)	(74±17)	(11±3)	(85±4)
III-C	BA (4h)	(91±17)	(24±3)	(74±5)

Fonte: Do autor.

Analisando a Figura 65 e Tabelas 19 e 20, algumas considerações importantes podem ser feitas:

- A manutenção de um volume residual, responsável por diminuir a CSA nas condições II-A e III-A, atrelado ao tempo de operação do AnSBBR, fez surgir condições favoráveis para o desenvolvimento de outras espécies microbianas, competidoras pelo mesmo substrato que as BRS, dando indícios da transição do AnSBBR de um comportamento estritamente sulfetogênico para um comportamento misto, envolvendo sulfetogênese e metanogênese, ambas em condições distantes da ótima;
- Com exceção da condição A, em que o AnSBBR ainda tendia para um comportamento sulfetogênico nas fases estudadas, vinculando dessa maneira a queda das CSA média nas fases I-A, II-A e III-A com a queda da COR média para cada uma dessas fases, a COR média para as diferentes estratégias de alimentação estudadas na condição B e C

foram estatisticamente semelhantes. Isso sugere maior sinergismo das bactérias acidogênicas e arqueias metanogênicas nas condições de alta COA (6,0 gDQO.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup> e 9,0 gDQO.L<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup>), o que garantiu estabilidades na remoção de DQO. Ou seja, a variação na estratégia de alimentação pouco influenciou o consumo de matéria orgânica ao longo das duas condições de maior COA, mas alterou o direcionamento das moléculas orgânicas para as rotas metabólicas existentes;

- A alimentação de 4 horas, para cargas orgânicas variando entre 6,0 gDQO.L<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup> (condição B) e 9,0 gDQO.L<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup> (condição C), auxilia o desempenho do AnSBBR em termos de remoção de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> - apesar da CSR média ser em igual pras todas as situações na condição C, o valor máximo desse parâmetro é atingido com as 4 horas de alimentação gradativa - porque a alimentação gradual garante maior disponibilidade e estabilização na concentração dos substratos utilizados pelas BRS, atenuando a competição dessas espécies com as acidogênicas, acetogênicas oxidantes de butirato ou lactato e com as AMA;
- Valores de COA próximos a 6,0 gDQO.L<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup> aceleram a atividade de bactérias fermentativas, provocando o acúmulo de ácidos orgânicos voláteis, o consumo de toda alcalinidade a bicarbonato, e uma conseqüente intensificação na disputa de substrato entre as espécies, atenuando a sulfetogênese. Dessa forma, a utilização do soro de leite na relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> de 2,0 não é a melhor opção para a redução biológica de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> nessas condições;
- As maiores cargas removidas de sulfato atingidas durante a operação, não acarretam nas maiores eficiências de conversão, apontando a tecnologia como pouco eficiente no tratamento da DASM nessas situações. Talvez o aumento do tempo de ciclo poderia contribuir para o aumento na conversão dos substratos haja vista um comportamento cinético de queda com taxa constante na maioria dos perfis realizados;
- Para situações em que o pH ao longo do ciclo permaneça abaixo ou em torno de 5,0, as maiores remoções de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> não se vinculam às maiores remoções de Fe<sup>2+</sup>, comprovando que a precipitação de sulfetos ferrosos deixa de ser dependente da concentração de H<sub>2</sub>S para se tornar proporcional apenas à concentração do íon desse metal em solução, como visto em Liu et al. (2016). Além disso, para regiões de pH<5,0, outros fenômenos como a adsorção do Fe<sup>2+</sup> na superfície do material suporte, devem ser mais influentes na remoção de metal do que para situações em que o meio reacional apresenta pH>6,0;

- Como não se efetuarem análises de cobre e zinco, nenhuma afirmação concreta sobre a remoção desses metais pode ser feita. Porém, visto os pequenos  $k_{PS}$  dos precipitados metálicos formados por esses elementos, é muito provável que, nas condições aplicadas, o AnSBBR seja eficiente na remoção de cobre e zinco, com concentração de final de ciclo menores que as de ferro.

Santos (2016) analisou o efeito de diferentes fontes de carbono e relações DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> no tratamento de DASM em reatores operados em bateladas sequenciais com volume de 750 mL e biomassa granular. Curiosamente, para o ensaio em que soro de leite foi utilizado como fonte de carbono, mantendo a relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> inicial em 2,0, e as concentrações iniciais de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> e DQO equivalentes a 1494±158 mg.L<sup>-1</sup> e 2835±286 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente, os resultados obtidos foram bem semelhantes aos relatados nesse presente trabalho. Relatou-se (43±19)% de remoção média de DQO, (58±8)% de remoção média de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> e (47±24)% de remoção média de Fe<sup>2+</sup>. Com exceção da remoção média de Fe<sup>2+</sup>, as eficiências de remoção de DQO e SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> são praticamente iguais ao atentar-se para a fase III-C da Tabela 19. Porém, esse desempenho foi obtido com ciclo de 48h, enquanto no presente trabalho o ciclo utilizado foi de 8h, seis vezes menor. Para a relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> de 1,0, ao usar soro de leite e tempo de ciclo de 48h, as remoções médias de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, DQO e Fe<sup>2+</sup> foram de (80±6)%, (68±18)% e (95±5)%, respectivamente, para uma concentração de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> inicial de 1500 mg.L<sup>-1</sup>.

Dessa forma, a partir desta última comparação, dos tópicos citados no início da sessão 5.6.6., e também, considerando a aplicação inédita do AnSBBR com recirculação da fase líquida no tratamento de DASM, mais estudos sobre a influência da relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, da fonte de carbono, do tempo de ciclo, da alimentação separada de DASM e de um meio com fonte de carbono, além da estimativa do tempo de descarte do lodo excedente, devem ser realizados antes do aumento de escala.

Tabela 21 - Média de  $SO_4^{2-}{}_A$ ,  $SO_4^{2-}{}_R$ , CSA, CSR, DQO<sub>A</sub>, DQO<sub>R</sub>, COA, COR e das eficiências de remoção para  $SO_4^{2-}$  e DQO relacionadas a cada fase estudada

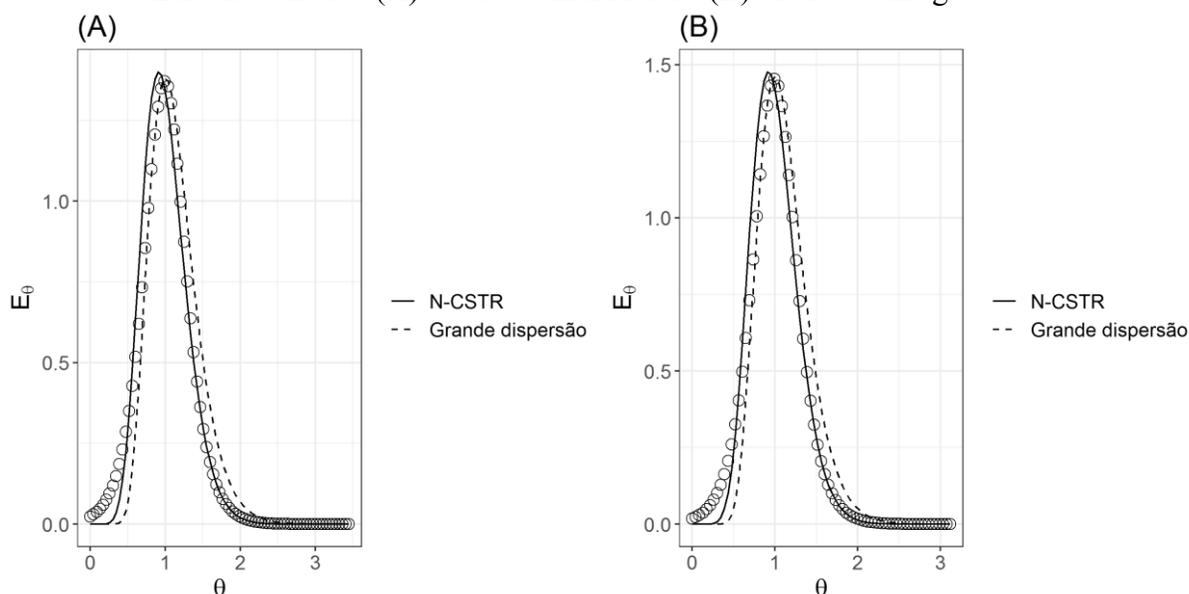
Fase	Estratégia	$SO_4^{2-}{}_A$ (mg.L <sup>-1</sup> )	$SO_4^{2-}{}_R$ (mg.L <sup>-1</sup> )	CSA (g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> )	CSR (g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> )	$\varepsilon_{SO_4^{2-}}$ (%)	COA (g.L <sup>-1</sup> .d)	COR (g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> )	DQO <sub>A</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	DQO <sub>R</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	$\varepsilon_{DQO}$ (%)
I-A	B	(655±103)	(17±7)	(1,9±0,6)	(1,8±0,3)	(97±1)	(3,04±0,17)	(1,82±0,80)	(1012±93)	(407±33)	(61±2)
II-A	BA (2h)	(510±65)	(49±15)	(1,28±0,08)	(1,15±0,08)	(90±3)	(2,30±0,06)	(1,23±0,06)	(950±29)	(438±27)	(54±3)
III-A	BA (4h)	(509±29)	(115±13)	(1,23±0,09)	(0,96±0,09)	(77±3)	(2,14±0,14)	(1,12±0,06)	(890±24)	(424±32)	(52±3)
I-B	B	(1031±102)	(620±72)	(3,0±0,2)	(1,2±0,3)	(40±8)	(5,7±0,6)	(2,6±0,2)	(1997±220)	(1063±57)	(46±5)
II-B	BA (2h)	(1052±98)	(626±24)	(3,1±0,4)	(1,38±0,08)	(42±6)	(5,7±0,2)	(2,8±0,3)	(2008±73)	(1030±112)	(49±4)
III-B	BA (4h)	(970±43)	(374±16)	(2,95±0,14)	(1,76±0,09)	(61±1)	(5,8±0,5)	(2,7±0,2)	(1981±164)	(1056±85)	(46±6)
I-C	B	(1395±95)	(653±52)	(4,08±0,22)	(2,17±0,18)	(53±3)	(9,3±1,3)	(4,5±1,4)	(3113±437)	(1619±73)	(47±8)
II-C	BA (2h)	(1348±72)	(697±54)	(4,02±0,14)	(2,06±0,29)	(51±8)	(9,3±1,3)	(4,5±1,5)	(3091±522)	(1581±172)	(48±8)
III-C	BA (4h)	(1437±149)	(617±131)	(4,1±0,3)	(2,40±0,14)	(57±7)	(9,3±1,2)	(4,6±1,3)	(3096±454)	(1562±91)	(49±8)

### 5.3 ENSAIOS HIDRODINÂMICOS BIÓTICOS

#### 5.3.1 Regime de fluxo no modo contínuo

A Figura 66 mostra as curvas  $E_\theta$ , obtidas a partir da derivada da curva F (perturbação degrau), juntamente com os comportamentos preditos pelos modelos tradicionais de Levenspiel, para os ensaios bióticos na vazão de  $10 \text{ L.h}^{-1}$ , feito com DASM e com água. Já a Tabela 22 reúne as estimativas dos parâmetros obtidos pela regressão desses modelos.

Figura 66 - Curvas  $E_\theta$  e modelos de Levenspiel ajustados para a vazão de recirculação de  $10 \text{ L.h}^{-1}$  nos ensaios (A) biótico com DASM e (B) biótico com água



Fonte: Do autor.

Tabela 22 - Parâmetros obtidos pelo ajuste do modelo N-CSTR e de Grande Dispersão aos dados oriundos dos ensaios bióticos para a vazão de  $10 \text{ L}^{-1}.\text{h}$

Vazão	Biótico - DASM		Biótico - Água	
	N-CSTR	$(D/uL)_{GP}$	N-CSTR	$(D/uL)_{GP}$
Q1	$(11,4 \pm 0,4)$	$(0,042 \pm 0,002)$	$(12,8 \pm 0,5)$	$(0,037 \pm 0,002)$

Fonte: Do autor.

Pela Tabela 22 e pela Figura 66, é nítido que o comportamento hidrodinâmico é praticamente o mesmo para as duas situações, já que o número de dispersão na situação com substrato fica bem próximo deste mesmo parâmetro para o ensaio feito com água. Dessa maneira, a produção dos gases insolúveis durante o tempo de detenção da DASM no leito do

AnSBBR pouco influencia o regime de fluxo, que, igualmente à situação abiótica, se aproxima de um comportamento pistonado. Resultado já esperado visto o tempo de passagem relativamente pequeno para o reator em questão, com tempo de detenção hidráulico médio equivalente à 6 min, bem diferente daquilo que é visto em sistemas contínuos com TDH médio variando de 12h a 48h.

O volume útil teórico do reator, encontrado nos ensaios envolvendo apenas a biomassa do leito e água, foi de 960 mL para a vazão de recirculação de  $10 \text{ L.h}^{-1}$  e de 920 mL para a vazão de recirculação  $20 \text{ L.h}^{-1}$ . Se comparado ao volume útil experimental do reator, equivalente a 1L, os valores obtidos pela integração da curva E distanciam-se em 4% e 8%, respectivamente. Pode-se dizer então que os respectivos TDHs teóricos devem desviar do TDH real na mesma magnitude. Dessa forma, apesar de se relatar a colmatação do leito ao longo da operação, pelo fato dele se comportar como um bloco de massa sólida, supostos curto-circuitos e caminhos preferenciais não afetaram o desempenho do AnSBBR.

## 6 CONCLUSÕES

- Os ensaios de tempo de mistura para as diferentes vazões de recirculação mostraram que a homegeinização do meio acontece de maneira rápida se comparada com o tempo total de ciclo de 8 horas, ou seja,  $t_{\text{mist}} \ll t_c$ , colocando a recirculação da fase líquida como alternativa satisfatória para o funcionamento adequado do AnSBBR;
- O regime de fluxo no interior do reator se aproxima de um comportamento pistonado, porém, o gradiente de concentração criado ao longo do leito é pequeno devido à alta vazão de recirculação adotada ( $20 \text{ L.h}^{-1}$ ), pouco influenciando no tempo necessário para atingir a condição de mistura completa.
- Pelos ensaios bióticos, verificou-se que a produção de gases é irrelevante no sentido de produzir alterações significativas no regime de fluxo no leito do AnSBBR para a vazão de recirculação do projeto ( $20 \text{ L.h}^{-1}$ ) e que apesar de se relatar a colmatação do leito ao longo da operação, nenhuma anomalia hidrodinâmica foi relatada;
- Para altas COA, referentes a  $6,0 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  na condição B e  $9,0 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  na condição C, a batelada alimentada de 4h se mostra mais eficiente na remoção de  $\text{SO}_4^{2-}$  que as outras estratégias de alimentação, quando soro de leite é usado como fonte de carbono, além de apresentar também maior estabilidade operacional;
- Para baixas COA, como os  $3,0 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$  aplicados na condição A, a estratégia de batelada foi a de melhor desempenho, apresentando as maiores eficiências de remoção de  $\text{SO}_4^{2-}$  e  $\text{Fe}^{2+}$  ao longo de toda a operação;
- Os modelos cinéticos propostos auxiliam no entendimento do desempenho do AnSBBR e reforçam a predominância das rotas metabólicas acessadas, e, previamente relatadas pelas observações experimentais, com grande representatividade;

## REFERÊNCIAS

ACERBI, K. W. **Efeito da relação DQO/Sulfato e fonte de carbono na biorremediação de drenagem ácida de minas sob condições ácidas em reator UASB**. 2014. 132 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, 2015.

AKAIKE, H. Information theory and an Extension of the maximum Likelihood Principle. **Second International Symposium on Information Theory**, Akademiai Kiado, Budapeste, 1973.

AKCIL, A., KOLDAS, S. Acid mine drainage (AMD): causes, treatment and case studies. **Journal of Cleaner Production**, v. 14, p. 1139-1145, 2006.

AMARO, A. M. et al. Effect of external pH perturbations on in vivo protein synthesis by the acidophilic bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*. **Journal of Bacteriology**, v. 173, n. 2, p. 910-915, 1991.

ARAÚJO, C.J. **Biorremediação de drenagem ácida sintética de mina por reatores UASB em escalas de bancada e piloto**. 2017. 167 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

ARCHILHA, N. C. et al. Effect of feeding strategy and COD/sulfate ratio on the removal of sulfate in an AnSBBR with recirculation of the liquid phase. **Journal of Environmental Management**, v. 91, p. 1756-1765, 2010.

BAI, H. et al. Treatment of acid mine drainage by sulfate reducing bacteria with iron in bench scale runs. **Bioresource Technology**, v. 128, p. 818-822, 2013.

BAKER-AUSTIN, C.; DOPSON, M. Life in acid: pH homeostasis in acidophiles. **Trends in Microbiology**, v.15, n. 4, p. 165-171, 2007.

BARROS NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas: Editora da Unicamp, 2001.

BIJMANS, M. F. M. et al. Sulfate reduction at pH 4.0 for treatment process and wastewaters. **Biotechnology Progress**, v.26, n.4, p.1029-1037, 2010.

BIJMANS, M. F. M. et al. Sulfate reduction at pH 5 in a high-rate membrane bioreactor: reactor performance and microbial community analyses. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 19, p. 698–708, 2009.

BURNHAM, K.P.; ANDERSON, D.R. **Model selection and multimodel inference**. 2. ed. Fort Collins: Springer, 2002.

CAMARGO, E. F. M. et al. Hydrodynamic analysis of an Anaerobic Sequencing Batch Biofilm Reactor with Liquid-Phase External Circulation. **Journal of Science and Technology of the Americas – INTERCIENCIA**, v. 40, n. 4, p. 188-194, 2005.

COLLERAN, E.; FINNEGAN, S.; LENS, P. Anaerobic treatment of sulphate-containing waste streams. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 67, p. 29–46, 1995.

COSTA, M. C. et al. Wine wastes as carbon source for biological treatment of acid mine drainage. **Chemosphere**, v. 75, p. 831-836, 2009.

COUTO, P. T. **Métodos numéricos e estatísticos aplicados à modelagem de um reator em batelada anaeróbio, no tratamento de drenagem ácida de mina**. 2016. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, 2016.

DEMIREL, B.; SCHERER, P. The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: a review. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 7, p. 173-190, 2008.

DOMINGUES, A.F.; BOSON, P.H.G.; ALIPAZ, S. (Org). **A gestão de recursos hídricos e mineração**. Brasília: ANA, 2006.

DOPSON, M.; LINDSTROM, E. B.; HALLBERG, K. B. ATP generation during reduced inorganic sulfur compound oxidation by *Acidithiobacillus caldus* is exclusively due to electron transport phosphorylation. **Extremophiles**, v. 6, n. 2, p. 123-129, 2002.

SANTOS, A. M. dos. **Efeitos da relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> e dos doadores de elétrons na riqueza microbiana de reatores utilizados no tratamento de águas residuárias ácidas ricas em sulfato**. 2016. 78 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, 2016.

EATON, A.D. et al. (Ed.). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21. ed. Washington, D.C.: American Public Health Association, 2005.

EL BAYOUMY, M. A. et al. Sulfide production by sulfate reducing bacteria with lactate as feed in an upflow anaerobic fixed film reactor. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 122, p. 87-64, 1999.

EMILIANO, P. C. **Crítérios de informação: como eles se comportam em diferentes modelos**. 2013. 193 f. Tese (Doutorado em Estatística e Experimentação Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

FOX, P. F. **Advanced dairy chemistry**. Londres: Chapman & Hall, 1997.

GILBERT, O. et al. Treatment of acid mine drainage by sulphate-reducing bacteria using permeable reactive barriers: A review from laboratory to full-scale experiments. **Environmental Science & Bio/Technology**, v. 1, p. 327-333, 2002.

HANSEN, A.T. Metabolism of sulfate-reducing prokaryotes. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 66, n. 1-3, p. 165-185, 1994.

HARRIS, D.C. **Análise química quantitativa**. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC Editora, 2001.

ISA, Z.; GRUSENMEYER, S.; VERSTRAETE, W. Sulfate reduction relative to methane production in high-rate anaerobic digestion: technical aspects. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 51, p. 572-579, 1986a.

JIMÉNEZ-RODRÍGUEZ, A. M. et al. Heavy metals removal from acid mine drainage water using biogenic hydrogen sulphide and effluent anaerobic treatment: Effect of pH. **Journal of Hazardous Materials**, v. 165, p. 759-765, 2009.

JIMÉNEZ-RODRIGUEZ, A.M. et al. Biological sulphate removal in acid mine drainage using anaerobic fixed bed reactors with cheese whey as carbon source. **Latin American Applied Research**, v. 40, p. 329-335, 2010.

JOHNSON, D.B.; HALLBERG, K. B. Acid mine drainage remediation options: a review. **Science Total Environmental**, v. 338, p. 3-14, 2005.

KAKSONEN A.H. et al. Simple organic electron donors support diverse sulfate reducing communities in fluidized-bed reactors treating acidic metal- and sulfate-containing wastewater. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 47, p. 279–289, 2014b.

KOSCHORRECK, M. Microbial sulphate reduction at a low pH. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 64, n. 3, p. 329-342, 2008.

LAPA, K. R. **Avaliação de desempenho do reator anaeróbio em batelada sequencial (ASBR), contendo biomassa imobilizada em pedra pome, para tratamento de esgoto sanitário**. 2003. 118 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil - Hidráulica e Saneamento) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2004.

LENS, P.N.L. et al. Biotechnological treatment of sulfate-rich wastewaters. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 41-88, 1998.

LEONE, L. et al. Modeling the acid-base properties of bacterial surfaces: A combined spectroscopic and potentiometric study of the gram-positive bacterium *Bacillus subtilis*. **Environmental Science & Technology**, v. 41, n. 18, p. 6465-6471, 2007.

LIDE, D.R. **Handbook of chemistry and physics**. 86th ed. New York: Taylor & Francis, 2005.

LEVENSPIEL, O. **Engenharia das reações químicas**. Rio de Janeiro: Editora Blucher, 2000.

LIU, Y. et al. New Approach to Study Iron Sulfide Precipitation Kinetics, Solubility, and Phase Transformation. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 56, n. 31, p. 9016-9027, 2017.

LOVATO, G. **Produção de biohidrogênio em AnSBBR tratando efluente do processo de produção de biodiesel – efeito da carga orgânica e tempo de enchimento**. 2014. 242 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil – Hidráulica e Saneamento) – Universidade de São Paulo, 2014.

MIZUNO, O.; LI, Y.Y.; NOIKE, T. Effects of sulfate concentration and sludge retention time on the interaction between methane production and sulfate reduction for butyrate. **Water Science and Technology**, v. 30, n. 8, p. 45-54, 1994.

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

NAGPAL, S. et al. Ethanol utilization by sulfate-reducing bacteria: an experimental and modeling study. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 70, p. 533–543, 2000.

NOVAES, L. F. et al. Effect of impeller type and agitation on the performance of pilot scale ASBR and AnSBBR applied to sanitary wastewater treatment. **Journal of Environmental Management**, v. 91, p. 1647-1656, 2010b.

PIMENTA, D. F. N. **Efeito da fonte externa de carbono na partida de reator UASB no tratamento de drenagem ácida de minas**. 2014. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, 2014.

PEREIRA, L.F.F. **Tratamento anaeróbio de drenagem ácida sintética de mina em reator UASB: avaliação de fontes de carbono e cargas de sulfato**. 2017. 133 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental) – Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2017. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. Acesso em: 03 set. 2016.

RADIĆ, S. et al. The efficiency of combined CaO/electrochemical treatment in removal of acid mine drainage induced toxicity and genotoxicity. **Science of Total Environment**, v. 466-467, p. 84-89, 2014.

RAMOS, A. C. T. et al. Massa transfer improvement of a fixed bed anaerobic sequencing batch reactor with liquid-phase recirculation. **Interciencia**, v. 28, n.4, p. 214-219, 2003.

RITTMAN, B. E.; McCARTY, P. L. **Biotecnologia ambiental: princípios e aplicações**. Nova York: Editora McGraw-Hill, 2001.

RODRIGUES, J. A. D. et al. Applied to a personal care industry wastewater treatment: effects of fill time, volume treated per cycle, and organic load. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 163, p. 127-142, 2010.

RODRIGUEZ, R.P. et al. Assessment of a UASB reactor for the removal of sulfate from acid mine water. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 74, p. 48-53, 2012.

ROHWERDER, T. et al. Bioleaching review part A: Progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.63 , p. 239–248, 2003.

SAMPAIO, G. F. **Tratamento de água residuária ácida proveniente de mina utilizando soro de leite como doador de elétrons**. 2015. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e

Engenharia Ambiental) – Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, 2015.

SÁNCHEZ-ANDREA, I. et al. Sulfate reduction at low pH to remediate acid mine drainage. **Journal of Hazardous Materials**, v. 269, p. 98-109, 2014.

SCHIPPERS, A.; ROHWERDER, T.; SAND, W. Intermediary sulfur compounds in pyrite oxidation: implications for bioleaching and biodepyritization of coal. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.52, p.104–110, 1999.

SILVA, A. J. **Biodessulfatação com posterior oxidação parcial do sulfeto em reatores operados em bateladas sequenciais**. 2005. 186 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

SILVA, M. E. C. et al. Synthesis of whey peptide-iron complexes: Influence of using different iron precursor compounds. **Food Research International**, v. 101, p. 73-81, 2017.

SHAPIRO, J. On the measurement of ferrous iron in natural waters. **Limnology and Oceanography**, v. 11, n.2, p. 239-298, 1966.

TANG, K.; BASKARAN, V.; NEMATI, M. **Bacteria of the sulphur cycle: An overview of microbiology, biokinetics and their role in petroleum and mining industries**. Canada: Department of Chemical Engineering, University of Saskatchewan, 2008.

VAN DEN BERG, M. F.; BOTES, M.; CLOETE, T. E. The formulation Of synthetic domestic wastewater sludge medium to study anaerobic biological treatment of acid mine drainage in the laboratory. **Water SA**, v. 42, n. 2, p. 350-354, 2016.

UTGIKAR, V. P. et al. Inhibition of sulfate-reducing bacteria by metal sulfide formation in bioremediation of acid mine drainage. **Environmental Technology**, v. 17, n.1, p. 40-48, 2002.

VISSER, A.; HULSHOFF POL, L.W.; LETTINGA, G. Competition of methanogenic and sulfidogenic bacteria. **Water Science Technology**, v.33, p. 99–110, 1996.

ZAGURY, G. J.; KULNIEKS, V. I.; NECULITA, C. M. Characterization and reactivity assessment of organic substrates for sulphate-reducing bacteria in acid mine drainage treatment. **Chemosphere**, v. 64, p. 944-954, 2006.

ZAIAT, M. et al. Anaerobic sequencing batch reactors for wastewater treatment: a developing technology. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.55, p. 29-35, 2001.