

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

CARLA BEATRIZ CASAGRANDE BORTOLUCI

**DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS CINÉTICOS EM BIOMASSA
GRANULAR NO TRATAMENTO DE DRENAGEM ÁCIDA DE MINAS**

Poços de Caldas/MG
2019

CARLA BEATRIZ CASAGRANDE BORTOLUCI

**DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS CINÉTICOS EM BIOMASSA
GRANULAR NO TRATAMENTO DE DRENAGEM ÁCIDA DE MINAS**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Ciência e Engenharia Ambiental, da Universidade Federal de Alfenas – 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

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

B739d Bortoluci, Carla Beatriz Casagrande.

Determinação de parâmetros cinéticos em biomassa granular no
tratamento de drenagem ácida de minas / Carla Beatriz Casagrande
Bortoluci. -- Poços de Caldas/MG, 2019.

107 f. –

Orientador(a): Leonardo Henrique Soares Damasceno.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental) –
Universidade Federal de Alfenas, campus Poços de Caldas, 2019.
Bibliografia.

1. Minas – Drenagem. 2. Massa – Transferência. 3. Biorreatores. I.
Damasceno, Leonardo Henrique Soares. II. Título.

CDD – 628.1

CARLA BEATRIZ CASAGRANDE BORTOLUCI

**DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS CINÉTICOS EM BIOMASSA
GRANULAR NO TRATAMENTO DE DRENAGEM ÁCIDA DE MINAS**

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: Ciência e Engenharia Ambiental.

Aprovada em: 27 de fevereiro de 2019.



Prof. Dr. Leonardo Henrique Soares Damasceno

Instituição: Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG)



Prof. Dr. Rafael Brito de Moura

Instituição: Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG)



Prof. Dr. Marcos Vinícius Rodrigues

Instituição: Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG)

***Aos meus amados pais,
Maria Ivanilde e José Carlos.
Ao meu parceiro e amigo, Romildo.
Dedico.***

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Maria Ivanilde e José Carlos, pelo amor incondicional, por todo apoio prestado para realização deste sonho, pelo incentivo e carinho nos momentos de dificuldade. Sou muito grata por tudo que fazem por mim.

Agradeço imensamente ao meu companheiro de jornada nessa vida, Romildo. Obrigada por sempre me fazer seguir em frente, me incentivar, pelo acalento nos momentos de ansiedade, pela sua compreensão, pelo zelo e por todo amor!

Ao orientador Professor Damasceno pela oportunidade, pela confiança depositada em mim e pelo compartilhamento do seu conhecimento. Agradeço por todo o apoio e suporte para realização deste trabalho.

Aos Professores do PPGCEA por compartilharem seu conhecimento de forma a proporcionar o melhor aprendizado aos alunos.

Agradeço ao Professor Marcos, Professor Gunther e Professor Rafael Brito por participarem da banca e ajudarem a melhorar o trabalho.

Aos colegas do Biotec pela parceria e por serem sempre solícitos. Agradeço ao Mauro Toledo pelo ensinamento das metodologias no laboratório e por sua maneira atenciosa em passar o conhecimento.

Às amigas de longa data da minha cidadezinha querida, obrigada pelos momentos de descontração e alegria.

Aos técnicos Ícaro e Robson pela solicitude e por realizarem as montagens dos agitadores magnéticos.

Gratidão a todos que de alguma forma colaboraram para realização deste trabalho.

*“Na natureza nada se cria, nada se perde, tudo se transforma.”
Antoine Laurent de Lavoisier*

*“Digo: o real não está na saída nem na chegada: ele se dispõe para a gente é
no meio da travessia.”
Guimarães Rosa*

RESUMO

O emprego de biorreatores contendo células imobilizadas é uma alternativa viável para o tratamento de drenagem ácida de mina, efluente líquido proveniente de atividades de mineração. Entretanto, nesse tipo de reator o substrato pode encontrar dificuldade em difundir no interior do grânulo bacteriano e afetar a cinética da reação. Com base nessa constatação, o presente trabalho tem como principal objetivo encontrar os parâmetros cinéticos intrínsecos em biomassa granular e avaliar se há efeitos de resistência a transferência de massa interna. Para isso, foram traçados perfis temporais nas concentrações de sulfato de 500 e 250mg.L⁻¹ para diferentes velocidades de escoamento. Essas fases foram operadas em reatores diferenciais em modo batelada, temperatura de 30±1°C, tempo de ciclo de 48h e etanol como fonte de carbono. A relação DQO/sulfato foi mantida igual a 2. O pH de entrada variou entre 3,2 e 3,3 e as concentrações de ferro, zinco e cobre correspondem a 25, 20 e 5mg.L⁻¹, respectivamente. De forma a encontrar a melhor condição para realizar os perfis, foram feitos testes preliminares em diversas condições operacionais. O módulo de Thiele observado foi utilizado para avaliar o efeito de transferência de massa intraparticular. Os resultados mostraram que o modelo cinético de primeira ordem foi representativo para descrever a redução de sulfato. Os valores das constantes cinéticas k_1 , para velocidades superficiais entre 0,07 e 1,75cm.min⁻¹, variaram na faixa de 0,0098 a 0,0136 para concentração de sulfato de 500mg.L⁻¹, e 0,0200 a 0,0648 para concentração de sulfato de 250mg.L⁻¹. O módulo de Thiele observado constatou que a resistência à transferência de massa interna pode ser desprezada, sendo a velocidade de consumo de substrato limitada à cinética da reação.

Palavras-chave: Parâmetros cinéticos intrínsecos. Transferência de massa. Módulo de Thiele. Redução de sulfato.

ABSTRACT

The use of bioreactors containing immobilized cells is a viable alternative for the treatment of acid mine drainage, liquid effluent from mining activities. However, in this type of reactor the substrate may find it difficult to diffuse inside the bacterial granule and affect the kinetics of the reaction. Based on this finding, the main objective of this work is to find the intrinsic kinetic parameters in granular biomass and to evaluate if there are effects of resistance to internal mass transfer. For this, temporal profiles were plotted at sulfate concentrations of 500 and 250mg.L⁻¹ for different surface velocities. These phases were operated in differential reactors in batch mode, temperature of 30±1°C, cycle time of 48h and ethanol as carbon source. The COD/sulfate ratio was maintained equal to 2. The input pH varied between 3.2 and 3.3 and the iron, zinc and copper concentrations corresponded to 25, 20 and 5mg.L⁻¹, respectively. In order to find the best condition to perform the profiles, preliminary tests were performed under various operating conditions. The observed Thiele modulus was used to evaluate the effect of internal mass transfer. The results showed that the kinetic model of the first order is representative to describe the sulfate reduction. The values of the kinetic constants k_1 , for superficial velocities between 0.07 and 1.05cm.min⁻¹, varied in the range of 0.0098 to 0.0136 for sulfate concentration of 500mg.L⁻¹, and 0.0200 to 0.0648 for sulfate concentration of 250mg.L⁻¹. The observed Thiele modulus showed that the resistance to internal mass transfer could be neglected, with the rate of substrate consumption being limited to the kinetics of the reaction.

Keywords: Intrinsic kinetic parameters. Mass transference. Thiele modulus. Reduction of sulfate.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema representativo das interações entre transporte de massa e reações bioquímicas em uma lâmina simétrica de uma biopartícula.....	33
Figura 2 - Representação do sistema em escala de bancada.....	40
Figura 3 - Representação do reator diferencial desmontado (a) e montado (b).....	41
Figura 4 - Foto do peneiramento da biomassa granular (a) e biomassa nos reatores diferenciais (b).....	42
Figura 5 - Foto dos reatores diferenciais	44
Figura 6 - Foto dos reatores diferenciais operando em sistema batelada.....	45
Figura 7 - Grânulos antes (a) e depois da determinação da sua área de projeção (b).	49
Figura 8 - Foto dos grânulos ampliada.....	49
Figura 9 - Fotos dos passos para obtenção da concentração de biomassa no reator.....	51
Figura 10 - Boxplot dos dados experimentais.....	54
Figura 11 - Histograma dos dados experimentais (Frequência e Densidade estatística).	55
Figura 12 - Perfil temporal 1 da etapa preliminar com volume de 100ml.	57
Figura 13 - Perfil temporal 2 da etapa preliminar com volume de 150ml.	57
Figura 14 - Foto do frasco com presença de sulfeto metálico.....	59
Figura 15 - Equilíbrio do H_2S , HS^- e S^{2-} em função do pH.	59
Figura 16 - Perfil temporal 3 da etapa preliminar com volume de 100ml.	60
Figura 17 - Perfil temporal 4 da etapa preliminar com volume de 300ml.	61
Figura 18 - Perfil I de concentração de sulfato, sulfeto, DQO e ferro em função do tempo.	63
Figura 19 - Perfil II de concentração de sulfato, sulfeto, DQO e ferro em função do tempo.	64
Figura 20 - Perfil III de concentração de sulfato, sulfeto, DQO e ferro em função do tempo.	65
Figura 21 - Perfil IV de concentração de sulfato, sulfeto, DQO e ferro em função do tempo.	66
Figura 22 - Perfil V de concentração de sulfato, sulfeto, DQO e ferro em função do tempo.	67
Figura 23 - Perfil VI de concentração de sulfato, sulfeto, DQO e ferro em função do tempo.	68
Figura 24 - Perfil VII de concentração de sulfato, sulfeto, DQO e ferro em função do tempo.....	69
Figura 25 - Remoção de DQO para as fases I,II,III, IV,V,VI e VII.	70

Figura 26 - Remoção de ferro para as fases I,II,III, IV,V,VI e VII.....	72
Figura 27 - Remoção de sulfato as fases I,II,III, IV,V,VI e VII.	76
Figura 28 - Produção de sulfeto para as fases I,II,III, IV,V,VI e VII.	78
Figura 29 - pH afluente e efluente para as fases I,II,III, IV,V,VI e VII.....	79
Figura 30 - Alcalinidade para as fases I,II,III, IV,V,VI e VII.....	80
Figura 31 - Concentração de sulfato em função do tempo do teste preliminar 4 e a curva obtida por meio de regressão polinomial.	84
Figura 32 - Perfil de ajuste cinético para a curva do teste preliminar 4, modelo de primeira ordem.....	85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Critério para avaliação da magnitude dos efeitos de transferência de massa na cinética global.....	32
Tabela 2 - Solução sintética da drenagem ácida de mina.....	43
Tabela 3 - Testes da fase preliminar.....	46
Tabela 4 - Estratégia de alimentação para diferentes velocidades superficiais	47
Tabela 5 - Estatística descritiva dos raios equivalentes	53
Tabela 6 - Média de $\text{SO}_4^{2-\text{A}}$, $\text{SO}_4^{2-\text{R}}$ e das eficiências de remoção para sulfato relacionado a cada fase estudada no teste preliminar.....	62
Tabela 7 - Média de $\text{SO}_4^{2-\text{A}}$, $\text{SO}_4^{2-\text{R}}$ e das eficiências de remoção para sulfato relacionado a cada fase estudada.....	82
Tabela 8 - Média de DQO_A , DQO_R e das eficiências de remoção para DQO relacionado a cada fase estudada.....	83
Tabela 9 - Média das concentrações de $\text{Fe}^{2+\text{A}}$ e $\text{Fe}^{2+\text{R}}$ e eficiência de remoção de Fe^{2+} relacionado a cada fase estudada.....	83
Tabela 10 - Equação obtida de concentração de sulfato no meio líquido em função do tempo e coeficiente de correlação (R^2) para a velocidade de 0,07, 0,35 e 1,75 $\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$	84
Tabela 11 - Equação obtida de velocidade específica observada (r_{obs}) e a concentração de biomassa.....	85
Tabela 12 - Valores da constante cinética de primeira ordem (k_1) obtidos para cada fase.....	86
Tabela 13 - Constante cinética de primeira ordem (k_1) de redução do sulfato em comparação com a literatura com suas respectivas características.....	87
Tabela 14 - Valores de módulo de Thiele observado (φ) obtidos para cada fase.....	91
Tabela 15 - Módulo de Thiele observado em comparação com a literatura em tratamento anaeróbio de águas residuárias	93

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASBBR	- Anaerobic sequencing batch biofilm reactor
ASBR	- Anaerobic sequencing batch reactors
BRS	- Bactéria redutora de sulfato
Ca	- Concentração de sulfato (mg L^{-1})
DAM	- Drenagem ácida de mina
DQO_A	- DQO afluente
DQO_R	- DQO residual ao final do ciclo
Fe²⁺_R	- Ferro afluente
Fe²⁺_R	- Ferro Residual ao final do ciclo
H₂S	- Sulfeto de hidrogênio
HS⁻	- Bissulfeto
pH	- Potencial Hidrogeniônico
Q	- Vazão ($\text{cm}^3 \text{min}^{-1}$)
S²⁻	- Sulfeto
SO₄²⁻_A	- Concentração de sulfato afluente
SO₄²⁻_E	- Concentração de sulfato residual ao final do ciclo
STV	- Sólidos totais voláteis
TDH	- Tempo de detenção hidráulico
UASB	- Upflow Anaerobic Sludge Blanket

LISTA DE SÍMBOLOS

φ	- Módulo de Thiele observado
$^{\circ}\text{C}$	- Graus Celsius
μ_m	- Micrômetro
Bi	- Número de Biot
C_{As}	- Concentração do substrato (mg L^{-1})
D_{Ae}	- Difusividade efetiva do substrato ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$)
K_1	- Constante cinética de primeira ordem (h^{-1})
K_m	- Constante de Michaelis-Menten (mg L^{-1})
K_s	- Coeficiente de transferência de massa líquido-sólido ($\text{cm}^3 \text{s}^{-1}$)
pK_a	- Logaritmo da constante de dissociação ácida (K_a) de uma solução
$r_{A,obs}$	- Velocidade específica de consumo de substrato observada ($\text{mg SO}_4^{2-} \text{mg STV}^{-1} \text{h}^{-1}$)
R_p	- Raio da biopartícula (cm)
S_x	- Área de superfície externa da biopartícula (cm^2)
V_{max}	- Velocidade máxima ($\text{mg L}^{-1} \text{min}^{-1}$)
V_p	- Volume biopartícula (cm^3)
u_s	- Velocidade superficial ou de escoamento do líquido (cm s^{-1})
X	- Concentração de biomassa no reator (mgSTV L^{-1})
R	- Raio equivalente da biopartícula (cm)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	OBJETIVOS.....	17
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
3.1	DRENAGEM ÁCIDA DE MINAS	18
3.2	BACTÉRIAS REDUTORAS DE SULFATO	20
3.3	TRATAMENTO DE DRENAGEM ÁCIDA DE MINAS	22
3.4	TRANSFERÊNCIA DE MASSA	29
3.4.1	Reatores contendo biomassa imobilizada	33
4	METODOLOGIA	40
4.1	DESCRIÇÃO DOS REATORES DIFERENCIAIS	40
4.2	INÓCULO.....	42
4.3	DAM SINTÉTICA E FONTE DE CARBONO.....	42
4.4	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	44
4.4.1	Montagem e adaptação.....	44
4.4.2	Fase preliminar	45
4.4.3	Operação dos perfis cinéticos.....	46
4.5	FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS	47
4.6	ANÁLISE DO TAMANHO DA BIOMASSA GRANULAR.....	48
4.7	CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA NO REATOR	50
4.8	PARÂMETROS CINÉTICOS	51
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.1	ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA BIOMASSA GRANULAR	53
5.2	RESULTADOS DO TESTE PRELIMINAR	56
5.3	PERFIS TEMPORAIS PARA AJUSTE CINÉTICO	62
5.3.1	Comparação entre as fases e discussão dos resultados.....	70
5.3.1.1	DQO	70
5.3.1.2	Ferro	72
5.3.1.3	Sulfato.....	76
5.3.1.4	Sulfeto.....	77
5.3.1.5	pH e Alcalinidade.....	79
5.3.2	Comentários Gerais.....	81

5.3.3	Ajuste cinético.....	83
5.3.4	Avaliação de transferência de massa interna	90
6	CONCLUSÕES	95
7	SUGESTÕES.....	96
	REFERÊNCIAS	97
	APÊNDICE A.....	107

1 INTRODUÇÃO

A drenagem ácida de mina (DAM) é proveniente de atividades de mineração, caracterizada por ser uma solução aquosa com pH ácido, geralmente abaixo de 3 e pela presença de metais dissolvidos. O principal impacto causado é a poluição hídrica, no qual gera efeitos toxicológicos e prejuízos à biodiversidade. A DAM ocorre quando a pirita (FeS_2), ou outro material sulfetado é exposto em contato com o oxigênio e a água, e através da oxidação desses minerais produz sulfato (GARCIA et al., 2001).

Devido à contaminação de solos e águas superficiais e subterrâneas causados pela DAM, é de extrema importância que seja realizado o tratamento do efluente, e os métodos usuais incluem: o processo físico-químico, no qual é adicionado compostos alcalinos que resultam no aumento do pH e precipitação dos metais pesados; e processos biológicos, onde ocorrerá a conversão do sulfato em sulfeto, realizado por uma comunidade microbiana, que irá favorecer a precipitação dos elementos metálicos (KEFENI; MSAGATI; MAMBA, 2017).

No processo biológico, as bactérias redutoras de sulfato (BRS), responsáveis pela transformação de sulfato a sulfeto, são microrganismos anaeróbios que utilizam o sulfato como receptor final de elétrons e compostos orgânicos (H_2 , metanol, etanol, lactato, propionato e acetato) como doadores de elétrons e fonte de carbono. As BRS consomem matéria orgânica para obter energia e moléculas de carbono para o seu crescimento e atividades metabólicas (MUYZER; STAMS, 2008).

O tratamento físico-químico, também conhecido como tratamento ativo, possui desvantagem por possuir baixa eficiência na remoção de sulfato, produção de grande volume de lodo, além do alto custo dos reagentes químicos (GARCIA et al., 2001), por esses motivos os biorreatores tornam-se uma alternativa viável para o tratamento da DAM.

Os biorreatores que utilizam células imobilizadas, aderidas na forma de biofilme ou na forma granular, apresentam inúmeras vantagens em comparação com os que utilizam células livre, como possibilidade da reutilização das células, maior produtividade volumétrica e simplificação no

processo *downstream*, porém nesse tipo de reator pode haver os efeitos de resistência à transferência de massa, no qual há limitação na taxa de suprimento de nutrientes e remoção de produtos no suporte ou na biopartícula (BRINGI; DALE, 1990). Por esse motivo, é imprescindível que sejam realizados estudos sobre os parâmetros cinéticos intrínsecos, sendo este essencial para a modelação e controle do processo.

A investigação da cinética em tratamentos de águas residuais utilizando processos anaeróbios é bastante discutida na literatura para a imobilização celular em suportes inertes. O estudo para a utilização em forma granular merece destaque, por terem sido localizados poucos artigos que tratem especificamente sobre este tema. Diante disso, este trabalho teve como propósito estudar os parâmetros cinéticos e os efeitos de resistência à transferência de massa em biomassa granular, de modo a possibilitar projetos de reatores com melhor desempenho e melhor compreensão dos fenômenos envolvidos nos sistemas reacionais.

2 OBJETIVOS

O trabalho teve como objetivo determinar os parâmetros cinéticos utilizando reatores diferenciais operados em bateladas com biomassa em forma granular para o tratamento de drenagem ácida de mina, submetido a diferentes estratégias de operação.

Foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

- a) Quantificação do tamanho dos grânulos e realização de análise estatística descritiva dos dados.
- b) Investigação da presença do metal ferro na eficiência de remoção de sulfato.
- c) Análise da eficiência na remoção de sulfato, ferro, DQO e produção de sulfeto através do aumento da velocidade de escoamento ascensional nos biorreatores.
- d) Determinação dos parâmetros cinéticos intrínsecos na dessulfatação para diferentes concentrações de sulfato e matéria orgânica.
- e) Avaliação da existência de resistência à transferência de massa interna.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

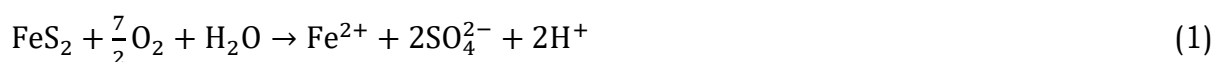
3.1 DRENAGEM ÁCIDA DE MINAS

A drenagem ácida de mina (DAM) resulta principalmente da oxidação da pirita (FeS_2), resíduo sólido originado da extração de carvão mineral. A DAM é caracterizada pelo baixo valor de pH, geralmente inferior a 3, pela presença de metais (por exemplo, Cu, Fe, Zn, Al, Pb, As, Cd, entre outros) e altas concentrações de sulfatos dissolvidos. A descarga da drenagem ácida em leitos de água causa prejuízos à biodiversidade e ao equilíbrio ecológico (EVANGELOU; ZHANG, 1995; GARCIA et al., 2001).

Além da pirita, outros minerais de sulfeto de ferro, como a marcassita (FeS_2), que é um polimorfo da pirita, ou seja, possui a mesma fórmula química mas diferentes estruturas cristalinas, a arsenopirita (FeAsS) e a calcopirita (CuFeS_2) também são capazes de gerar drenagem ácida. Quando estes minerais são expostos em contato com a água e o oxigênio da atmosfera, devido à atividade de mineração, escavação ou através de processos natural de erosão, ocorre a oxidação dos minerais e liberação de ácido sulfúrico (JACOBS; LEHR; TESTA, 2014). São reações autocatalíticas e sua taxa é acelerada pela atividade bacteriana (PEPPAS; KOMNITSAS; HALIKIA, 2000). Após o ácido sulfúrico ser gerado, a pirita dissolve-se na água de drenagem, liberando metais no ambiente (JACOBS; LEHR; TESTA, 2014).

Um dos grupos mais notório de bactérias responsáveis por catalisar as reações da DAM é conhecido como *Acidithiobacillus*, anteriormente *Thiobacillus ferrooxidans*. As taxas de geração de DAM são controladas por diversos fatores: atividade bacteriana, pH, área superficial do mineral sulfídrico, cristalografia, tipo de minerais de sulfetos, temperatura e concentração de oxigênio (NECULITA et al., 2007).

As reações que descrevem a oxidação da pirita são descritas a seguir (NECULITA et al., 2007):



O processo é iniciado em pH neutro e pela liberação de íon ferroso através da oxidação da pirita. Essa reação provoca uma redução no valor do pH.

O próximo passo ocorre em baixo valor de pH, geralmente menor do que 4:

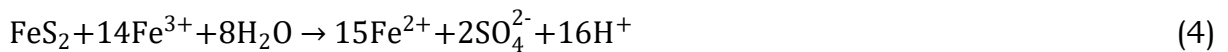


As bactérias acidófilas geram sua energia oxidando íon ferroso [Fe (II) ou Fe^{2+}] para íon férrico [Fe (III) ou Fe^{3+}] usando o oxigênio para respiração celular (JACOBS; LEHR; TESTA, 2014). Essas bactérias podem acelerar a taxa de oxidação do Fe^{2+} por um fator de 10^6 .

Se o meio possui pH entre 2,3 a 3,5, o íon férrico precipita como hidróxido de ferro e libera íons H^+ , reduzindo ainda mais o valor do pH:

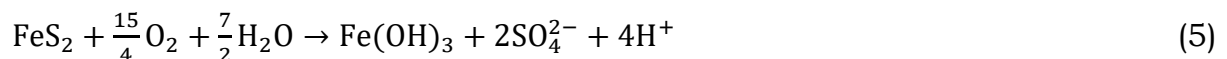


O ciclo reinicia continuamente devido ao Fe^{3+} ser reduzido pela pirita e gerar Fe^{2+} e acidez, perpetuando o ciclo até que o íon férrico ou a pirita sejam esgotados:



O Fe^{3+} é um oxidante de sulfeto mais eficiente do que o O_2 . Além disso, a quantidade de H^+ liberado para oxidação de 1 mol de pirita por Fe^{3+} é de 16 mols (reação 4), comparado com 2 mols por O_2 (reação 1). Por esses motivos, a oxidação de Fe^{2+} para Fe^{3+} (reação 2) é denominada uma etapa determinante no processo de geração de ácido.

A reação global que proporciona a formação da DAM é representada pela junção das reações 1,2 e 3:



Essas reações aumentam progressivamente a acidez na água, no qual resulta na mobilização de metais de resíduos de minas.

O impacto ambiental gerado pela DAM pode ser reduzido através dos seguintes procedimentos: prevenção do processo de geração do ácido;

prevenção da migração da drenagem ácida e recolha e tratamento do efluente (AKCIL; KOLDAS, 2006).

3.2 BACTÉRIAS REDUTORAS DE SULFATO

O enxofre é um dos elementos mais abundantes na Terra, pode ser encontrado em rochas e sedimentos ($7800 \times 10^{18} \text{g}$) na forma de sulfeto de ferro, como a pirita (FeS_2) e gesso (CaSO_4) ou como sulfato em água do mar ($1280 \times 10^{18} \text{g}$). O enxofre possui uma ampla gama de estado de oxidação, e pode assumir várias formas químicas, desde a mais oxidada (sulfato), até a mais reduzida (sulfeto). Essa transformação ocorre por processos químicos e biológicos (MUYZER; STAMS, 2008).

As bactérias redutoras de sulfato (BRS) apresentam grande importância nos ciclos do enxofre e carbono, são microrganismos anaeróbios heterotróficos ou autotróficos que utilizam sulfato como acceptor final de elétrons na degradação de compostos orgânicos, tendo como produto o sulfeto. A rota que possibilita essa transformação é denominada de “redução dissimilativa de sulfato”. Esses microrganismos são benéficos para remoção de sulfato e metais pesados em efluentes líquidos e a energia resultante é utilizada para seu crescimento e desenvolvimento (MUYZER; STAMS, 2008).

A DAM geralmente apresenta baixas concentrações de carbono orgânico dissolvido ($<10 \text{mg.L}^{-1}$) (KOLMERT; JOHNSON, 2001), por isso é necessário a adição de uma fonte de carbono orgânica externa para ser utilizada como doador de elétrons e fonte de carbono para as BRS. A escolha do substrato orgânico deve ser feita baseado nos seguintes critérios: capacidade da BRS de utilizar o substrato; disponibilidade e adequação do substrato para a aplicação particular (passiva versus ativa, tipo de reator, entre outros); carga de sulfato a ser reduzida e o custo do substrato por unidade de H_2S produzido; possível carga de poluição residual do substrato incompletamente degradado (KAKSONEN; PUHAKKA, 2007). O objetivo é encontrar um substrato adequado para tornar o processo eficiente e viável economicamente (NECULITA et al., 2007).

As BRS podem utilizar uma variedade de substratos orgânicos, incluindo H_2 , metanol, etanol, lactato, propionato e acetato. O lactato é o melhor substrato doador de elétrons em termos de energia e biomassa produzida, além disso, possibilita maior produção de bicarbonato, o qual melhora a neutralização da acidez no efluente tratado (NECULITA et al., 2007).

A digestão anaeróbia é dividida nas seguintes etapas: hidrólise, etapa na qual as macromoléculas (proteínas, polissacarídeos e lipídeos) são hidrolisadas por bactérias hidrolíticas; acidogênese, os monômeros (aminoácidos, açúcares e ácidos graxos) são metabolizados pelas bactérias fermentativas e são convertidos em uma gama de produtos mais simples, como acetato, propionato, butirato, lactato e hidrogênio; acetogênese, fase em que as bactérias oxidam os produtos da fermentação em substrato (acetato, dióxido de carbono e hidrogênio) para as arqueas metanogênicas; metanogênese, etapa na qual as arqueas produzem metano e dióxido de carbono; sulfetogênese, estágio em que o sulfato é reduzido a sulfeto através das BRS (MUYZER; STAMS, 2008).

Na presença de sulfato, as BRS podem competir por substrato com os outros microrganismos anaeróbios, incluindo as bactérias fermentativas, acetogênicas e metanogênicas (MUYZER; STAMS, 2008). A relação DQO/SO_4^{2-} é um parâmetro que pode determinar quais microrganismos irão predominar no sistema. A relação estequiométrica de 0,67 indica que teoricamente existe sulfato suficientemente para remover a matéria orgânica por meio das BRS. Se a taxa for menor do que 0,67 não haverá matéria orgânica suficiente para redução completa do sulfato, e para uma relação maior que 0,67, a completa remoção da matéria acontecerá se a metanogênese também ocorrer (LENS et al., 1998).

El Bayoumy et al. (1999) estudaram a produção de sulfeto pelas BRS em um Reator Anaeróbio de Leito Fixo de Fluxo Ascendente (UAFFR) utilizando lactato como fonte de carbono. O principal objetivo foi avaliar o crescimento BRS no sistema. A razão $DQO/sulfato$ que apresentou maior produção de sulfeto foi entre 1,5 e 2,25. A melhor relação de DQO , nitrogênio e fosforo foi de 100, 5, 1, respectivamente.

Barbosa et al. (2009) avaliaram a eficiência da redução biológica de sulfato através de diferentes taxas de DQO/sulfato (0,67 – 3,6) para meio contendo lactato e etanol. Para a fonte de carbono lactato, na relação estequiométrica de 0,67, 46% do conteúdo inicial do sulfato foi removido, por outro lado, utilizando a relação de 2, obteve-se 98% de remoção de sulfato adicionado inicialmente. Entretanto, para o meio contendo etanol, o melhor resultado obtido foi de 50% de remoção de sulfato utilizando a relação de DQO/sulfato de 3,6.

Velasco et al. (2008) estudaram a relação DQO/sulfato em um reator UASB, empregando etanol como doador de elétrons. O trabalho utilizou como critério de controle a produção de sulfeto e a precipitação do chumbo dissolvido. Uma concentração máxima de sulfeto dissolvido foi obtida em uma relação DQO/sulfato de 2,5, com conversões de sulfato e etanol de aproximadamente 94 e 87%, respectivamente. A menor concentração de sulfeto dissolvido foi observada com uma relação DQO/sulfato de 0,67. A relação DQO/sulfato de 1,5 possibilitou 99% de remoção de chumbo dissolvido.

As BRS são caracterizadas como completas e incompletas, sendo a completa representada pelo grupo no qual degradam a matéria orgânica até dióxido de carbono e as incompletas em que degradam compostos orgânicos até acetato (MUYZER; STAMS, 2008).

3.3 TRATAMENTO DE DRENAGEM ÁCIDA DE MINAS

O tratamento da DAM é dividido em duas categorias, sendo o ativo e passivo. A principal diferença entre os dois grupos, é que no tratamento ativo utiliza-se aplicação de insumos químicos contínuos para a neutralização da DAM, à medida que no tratamento passivo são utilizados produtos químicos naturais e processos biológicos (KEFENI; MSAGATI; MAMBA, 2017).

A metodologia do tratamento ativo baseia-se na aplicação de produtos químicos alcalinos, entre eles o hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2) e carbonato de

cálcio (CaCO_3). Esses produtos tem o objetivo de aumentar o pH do meio e reagirem com o sulfato, formando o $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, ocorrendo assim, a precipitação dos metais. Outras técnicas que englobam no tratamento ativo é a adsorção, troca-iônica e tecnologia empregando membrana e mais recentemente está sendo estudada a dessalinização alcalina de cálcio de bário. O tratamento ativo apresenta alto custo de reagentes químicos, remoção ineficiente de sulfato e produção de grande volume de lodo (GARCIA et al., 2001; KAKSONEN; PUHAKKA, 2007; KEFENI; MSAGATI; MAMBA, 2017).

Matlock et al. (2002) estudaram a precipitação química de metais pesados na DAM. O BDET (1,3-benzenediamidoethanethiol dianion), conhecido comercialmente como “MetX”, é um composto ligante que tem a capacidade de “amarrar” os metais pesados. Foi utilizada uma mina abandonada para o estudo. O pré-tratamento dentro da mina abandonada reduz as altas concentrações de Fe(II) e também outros metais contaminantes como cobre, manganês, entre outros, além de reduzir a quantidade de lodo secundário.

Peppas, Komnitsas e Halikia (2000) utilizaram coberturas orgânicas derivado do lodo do tratamento de esgoto municipal para controlar a DAM, visto que essa cobertura impede a difusão de oxigênio em resíduos de sulfetos reativos e assim elimina a oxidação de compostos sulfídricos e a geração de águas ácidas. A cobertura possui alta alcalinidade, baixa permeabilidade hidráulica, além de boa capacidade de troca de cátions. O objetivo do trabalho foi desenvolver um modelo experimental para avaliar o comportamento da cobertura orgânica e apresentar os dados laboratoriais obtidos, além de discutir os potenciais riscos à saúde e ao meio ambiente decorrente da aplicação do lodo do esgoto municipal tratado. Os parâmetros considerados consistem em taxa de precipitação anual, altura do material orgânico, umidade inicial e umidade em condições de saturação. A matéria orgânica ajuda a precipitar os metais como sulfetos e oxihidróxidos e permite o estabelecimento de uma cobertura vegetal, além de inibir a drenagem ácida de minas.

O tratamento passivo é o mais utilizado na DAM e o mais apropriado para aplicação em minas abandonadas, a sua metodologia inclui o sistema de tratamento biológico com zonas húmidas, barreira reativa permeável, no qual pode ser utilizado processo químico ou biológico, tratamento químico com drenos de calcário e biorreatores de redução de sulfato. O tratamento passivo possui vantagem em relação ao ativo, pois apresenta benefícios de baixo custo operacional e manutenção, além dos resíduos produzidos serem mais densos, menos volumosos e mais estáveis (KEFENI; MSAGATI; MAMBA, 2017).

O processo de redução de sulfato utilizando BRS é o mais promissor para tratamento da DAM e recuperação de metais, e ainda apresenta a vantagem desses microrganismos crescerem em ambientes de mineração. Esse método apresenta vantagens devido à sua capacidade de reduzir sulfato a sulfeto, o qual irá reagir com os metais dissolvidos na água contaminada, como cobre, ferro e zinco, formando precipitados insolúveis, além de que a própria ação da redução do sulfato, resulta na diminuição de acidez do sistema (GARCIA et al., 2001). As reações são expressas a seguir (KAKSONEN; PUHAKKA, 2007):



Sendo que CH_2O representa a matéria orgânica.



No qual M^{2+} representa metais catiônicos como: Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} e Ag^{2+} .

Na reação 7 ocorre a precipitação de metais dissolvidos realizado pelo sulfeto de hidrogênio, gerando sulfetos com baixa solubilidade. A partir desse processo é possível separar os metais.

Uma grande parte das BRS crescem de maneira mais satisfatória em pH entre 6 e 8. O pH mais baixo neste caso implica em mais investimento de energia no bombeamento de prótons através da membrana plasmática (SÁNCHEZ-ANDREA et al., 2014). Por isso, existem vários trabalhos que utilizam nos biorreatores o efluente com pH neutro (HOUTEN; POL; LETTINGA, 1994; WILLOW e COHEN, 2003).

Devido o pH da drenagem ácida de minas ser baixo, é de extrema importância que sejam realizados estudos que visem o seu tratamento nessas condições e evitar assim, a etapa de neutralização desse efluente. É vantajoso evitar a adição de reagentes neutralizantes devido seu alto custo. Cepas de BRS acidófilas foram isoladas e estas se apresentaram mais eficientes que as neutrófilas para remediação de águas residuais ácidas (KOLMERT; JOHNSON, 2001).

Os biorreatores são uma ótima alternativa para tratamento da DAM, pois evitam custos com gerenciamento de lodo e permitem maior controle das condições operacionais. Os reatores anaeróbios em bateladas alimentadas contendo biomassa granular (ASBR) são amplamente utilizados em tratamentos de águas residuais, devido algumas vantagens em relação aos processos contínuos, como melhor retenção de sólidos, eficiente remoção de matéria orgânica e controle operacional simples (RATUSZNEI et al., 2000).

O (ASBR) é caracterizado por quatro etapas: alimentação com água residuária, reação, sedimentação da biomassa e retirada do líquido tratado. A etapa de sedimentação é dependente da biomassa auto imobilizada, que deve possuir boas características de sedimentação (ZAIAT et al., 2001).

Outra possibilidade de reator descontínuo, é o reator anaeróbio operado em batelada sequencial com biomassa imobilizada (AnSBBR), nesse caso é utilizado um suporte inerte para imobilização celular. Esse processo apresenta melhor retenção de sólidos e não necessita da etapa de sedimentação, o que leva a um menor tempo de ciclo de operação (RATUSZNEI et al., 2000).

TAYLOR e WHEELER (1984) estudaram a oxidação da pirita em pH 2. Os experimentos foram conduzidos em condições aeróbias e anaeróbias. O estudo teve o intuito de interpretar variações isotópicas nas águas ácidas de minas, sendo um dos primeiros projetos a trabalhar nesse tópico e melhorar o entendimento dos passos na oxidação da pirita em condições ácidas.

BIGHAM (1996) avaliou a influência do pH na especiação (formação de espécies) em um biorreator simulando drenagem ácida de minas. Foi investigada a oxidação biológica do ferro. Concluíram que pequenas

mudanças no pH pode ter impacto na especiação. A ampla distribuição de linhagens tolerantes a ácidos e metais pode ser explicada pela transferência lateral de genes, mecanismo pelo qual alguns genes podem ser introduzidos para criar novas linhagens (BAKER; BANFIELD, 2003).

Elliott, Ragusa e Catcheside (1998) estudaram um sistema de remediação de drenagem ácida de minas usando BRS em um biorreator anaeróbico de fluxo ascendente operado em condições ácidas. O reator operou em fluxo contínuo e o meio contendo lactato. Os autores concluíram que BRS são capazes de reduzir sulfato e produzir alcalinidade em valores de pH menor do que 3,25, a remoção de sulfato nessas condições foi de 38,3% e o valor do pH passou à 5,82. Por outro lado, em pH 3, a remoção de sulfato foi de 14,4%. As BRS permaneceram em atividade após exposição em pH 3 por 21 dias, indicando que as BRS são capazes de suportar pH ácido por longos períodos de tempo.

Garcia et al. (2001) estudaram a biorremediação de água ácida de mina industrial pelas BRS tolerantes a metal. As BRS foram capazes de remover de modo eficiente até 9000 ppm de íon sulfato, crescer na presença de 10ppm de cobre e 30ppm de ferro, e alcalinizar o meio, desde que este não fosse extremamente ácido, com valor de pH menor do que 4. Os metais foram recuperados como sulfetos metálicos.

Foucher, Ignatiadis e Morin (2001) realizaram o tratamento de drenagem ácida de minas sintética contendo metais em diferentes concentrações (Fe: 1540mg.L⁻¹; Zn: 320mg.L⁻¹; Cu: 160mg.L⁻¹; Al: 210mg.L⁻¹; Mn: 5,5mg.L⁻¹; Co: 0,06mg.L⁻¹; Ni: 0,4mg.L⁻¹; Pb: 0,5mg.L⁻¹). Cobre e zinco foi removido em pH= 2,8 e pH= 3,5, respectivamente. Outras impurezas como níquel e ferro foram removidas em pH= 6. O método permitiu eliminar os metais tóxicos, a acidez e o sulfato da drenagem ácida de minas, além de possibilitar a recuperação de metais como sulfetos metálicos.

Kolmert e Johnson (2001) realizaram um estudo comparativo entre as BRS neutrófilas e acidófilas. A operação foi realizada em três reatores: acidófilas isoladas, neutrófilas isoladas e consórcio entre as duas citadas anteriormente. As fontes de carbono utilizadas foram o etanol, glicerol e

ácido láctico. As BRS acidófilas foram mais eficientes do que as neutrófilas quando utilizado o substrato com etanol.

Tsukamoto e Miller (2004) realizaram experimentos em biorreatores de coluna para tratamento biológico de drenagem ácida de mina em baixa temperatura e baixo pH. Examinaram o uso de matrizes alternativas de suportes sólidos nos biorreatores para melhorar o desempenho da condutividade hidráulica. O uso de vários tamanhos de rochas foi comparado com lascas de madeira e suporte plástico. Foi utilizado etanol e metanol e ambos apresentaram sucesso para remover sulfato e ferro no estudo em colunas utilizando BRS. O etanol possibilitou uma adaptação mais rápida para as bactérias do que o metanol. Os autores obtiveram uma remoção média de sulfato de 36% para o metanol e 41% para o etanol, ambos operados em temperatura de 22°C e em pH de 3,5.

Mohan et al. (2005) estudaram a bio-augmentação em um reator AnSBBR com imobilização de BRS em matriz de alginato para tratamento de água residuária rica em sulfato. Os autores concluíram que o incremento de consórcios de BRS no sistema fez aumentar a eficiência de remoção de sulfato de 27 para 80%, houve um aumento significativo no rendimento de biogás e redução na concentração de ácidos graxos voláteis no sistema.

Oyekola, Van e Harrison et al (2010) estudaram o metabolismo anaeróbico do lactato na sulfetogênese. No trabalho é descrito e relacionado os efeitos da concentração do sulfato (1mg.L^{-1} a 10mg.L^{-1}), concentração do lactato e a estequiometria da redução biológica do sulfato. Obtiveram como conclusão que em 10mg.L^{-1} de sulfato houve altas concentrações de sulfeto, e por este motivo reprimiram a atividade das fermentadoras de lactato. Isso levou ao predomínio da via oxidativa incompleta do lactato. A utilização com aumento residual do lactato favorece o consumo de sulfato além de diminuir a inibição do crescimento bacteriano pela presença de sulfeto dissolvido.

Silva (2011) estudou a precipitação de metais presentes em DAM por íons sulfeto através de sulfeto de sódio (Na_2S) e sulfeto biogênico, realizado pelas BRS. No trabalho foi estudado a remoção dos metais cobre e níquel e os valores residuais considerando o emprego do sulfeto biogênico foi de $0,28\text{mg.L}^{-1}$ e $0,09\text{mg.L}^{-1}$, respectivamente. Os melhores valores de pH inicial

para remoção desses metais foi de 2 para o cobre e 5 para o níquel, utilizando esses valores de pH foi possível atingir mais de 99% de remoção para ambos os metais.

Zhang e Wang (2016) utilizaram grânulos de BRS resistentes a metais pesados para tratar DAM, contendo altas concentrações de íons de metais pesados. Foi utilizado um biorreator anaeróbio de leito fixo e fluxo ascendente contendo lactato como fonte de carbono. O reator apresentou bom desempenho com afluente em pH 2,8 e altas concentrações de metais (Fe: 463mg.L⁻¹; Mn: 79mg.L⁻¹; Cu: 76mg.L⁻¹; Cd: 58mg.L⁻¹ e Zn: 118mg.L⁻¹). As eficiências de remoção de Fe, Cu, Cd e Zn foram de 99,9%. O pH do efluente permaneceu na faixa de 7,8 a 8,3. A eficiência da remoção de sulfato foi de 80,2%. O fluxo de elétrons da oxidação de lactato para sulfato atingiu um valor máximo de 71%. O resto dos elétrons foi em parte provavelmente usado para reações fermentativas e crescimento da biomassa, evidenciado pela comunidade bacteriana no biorreator.

Diversos autores têm associado a falha do tratamento biológico da DAM e pH mais baixos ao efeito deste sobre as BRS (WILLOW; COHEN 2003). Entretanto, Pereira (2017) e Araújo (2017) conseguiram eficiência de conversão de sulfato superiores a 90% em condições de baixo pH, utilizando reatores UASB e etanol como fonte de carbono em escala de bancada e piloto, respectivamente. Entretanto, no pH igual a 3,0 o principal agente de toxicidade observado por esses autores foi a presença de ferro reduzido que, em pH inferior ao seu pKa, não se converte a ferro oxidado (Fe³⁺), com grande estabilidade e efeitos deletérios significativos no meio. Pereira (2017) observou ainda que, com o emprego de soro de leite como fonte de carbono, houve melhores condições de degradabilidade e atuação das BRS, provavelmente devido à maior biodisponibilidade e quelação do ferro reduzido.

Liu (2018) realizou experimentos em batelada para tratamento de águas residuais contendo arsênio e antimônio através das BRS. As fontes de carbono utilizadas foram o lactato e o etanol. O efeito das fontes de carbono e do Fe (II) foi avaliado na remoção desses metais. O arsênio foi eficientemente removido na presença de Fe(II), removido por co-precipitação

por sulfeto de ferro. O etanol como fonte de carbono resultou em maior remoção de arsênio e antimônio em comparação com o uso do lactato.

O etanol é amplamente utilizado como fonte de carbono para as BRS devido principalmente à sua disponibilidade e baixo custo (KOUSI et al., 2011).

3.4 TRANSFERÊNCIA DE MASSA

A transferência de massa é definida como um fenômeno ocasionado pela diferença de concentração, ou seja, haverá um fluxo de matéria de uma região de maior concentração de uma espécie química para outra de menor concentração. Essa definição origina-se da segunda lei da termodinâmica, análoga a transferência de calor provida pelos gradientes de temperatura (CREMASCO, 2002).

Cinética química é definida como o estudo das velocidades de reações químicas e seus mecanismos de reação. A velocidade de reação representa o quão rápido um número de mols de uma espécie química está sendo consumido para formar outra espécie.

A velocidade global da reação pode ser reduzida em sistemas com células imobilizadas (BRINGI e DALE 1990). Muitas variáveis podem afetar a velocidade global da reação: velocidade de transferência de massa através das fases, características hidrodinâmicas e a cinética de utilização de substrato e crescimento celular. O estudo de parâmetros cinéticos intrínsecos é fundamental para o estabelecimento de parâmetros de projeto, a fim de melhorar a capacidade de previsão do desempenho de reatores e a eficiência do processo (VIEIRA, 1996).

Em reações de bioprocessamento a biomassa pode ser utilizada na forma livre, no qual a biomassa cresce de forma dispersa no meio líquido, sem nenhuma estrutura de sustentação, ou imobilizada, processo em que a biomassa cresce aderida a um meio suporte, que pode ser formado por métodos naturais, os quais incluem a formação de biofilmes e a adesão/adsorção microbiana em suportes sintéticos ou naturais e pelos

métodos artificiais, os quais incluem a encapsulação em matrizes como alginato de cálcio ou uso de agentes ligantes, ou constituídos pela própria biomassa aglomerada (grânulos) (SPERLING, 2018).

O substrato adentra o grânulo pelo fenômeno de difusão e, caso a sua espessura seja muito elevada, as camadas internas do biofilme podem ficar deficientes de substrato, diminuindo a sua atividade (SPERLING, 2018). Esse fenômeno é conhecido como resistência à transferência de massa.

Os processos de transferência de massa exercem uma influência significativa na taxa de conversão global. Para análise da transferência de massa interna, é necessário conhecer a geometria do sistema e a cinética da reação (DORAN, 1995).

Através da teoria da difusão é possível quantificar o efeito da transferência de massa na taxa de reações enzimáticas e celulares, porém esses métodos podem ser aplicados somente quando conhecido os parâmetros cinéticos. Uma alternativa para essa questão é utilizar o módulo de Thiele observado, também chamado de módulo de Weisz (DORAN, 1995):

$$\varphi = \left(\frac{Vp}{Sx}\right)^2 \cdot \frac{r_{A,obs}}{D_{Ae} \cdot C_{As}} \quad (8)$$

Em que:

Vp = volume biopartícula (cm^3);

Sx = área de superfície externa da biopartícula (cm^2);

$r_{A,obs}$ = velocidade específica de consumo de substrato observada ($\text{mg X mg STV}^{-1} \text{ h}^{-1}$);

D_{Ae} = difusividade efetiva do substrato ($\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$);

C_{As} = concentração do substrato (mg L^{-1}).

O módulo de Thiele observado permite avaliar a influência da resistência interna à transferência de massa sobre a velocidade bioquímica (MORAES, 2012). Quando considerado a forma da partícula esférica, tem-se (DORAN, 1995):

$$\varphi = \left(\frac{R}{3}\right)^2 \cdot \frac{r_{A,obs} \cdot X}{D_{Ae} \cdot C_{As}} \quad (9)$$

Onde R é o raio equivalente da biopartícula (cm) e X a concentração de biomassa presente no biorreator (mg STV L^{-1}).

O fator de efetividade apresentado na equação 10, é uma forma de representar a extensão dos efeitos difusionais, é definido como a razão entre a velocidade de utilização de substrato observada ($r_{A,obs}$) de uma dada reação e a velocidade que prevaleceria na ausência de limitações à transferência de massa (r) (VIEIRA,1996).

$$\eta = \frac{r_{A,obs}}{r} \quad (10)$$

Na ausência de transferência de massa $r_{A,obs} = r$ e $\eta = 1$. A avaliação analítica de η torna-se complicada quando esta apresenta uma forma não linear, como exemplo tem-se o modelo cinético do tipo Monod. Por isso, é mais viável o uso de parâmetros adimensionais para avaliação da limitação à transferência de massa: módulo de Thiele (φ) e o número de Biot (Bi) (VIEIRA, 1996).

O número de Biot, considerando uma partícula esférica, equação 11, permite avaliar a resistências externa à transferência de massa. Este parâmetro relaciona a velocidade de transporte de massa na camada líquida estagnada ao redor da partícula com a velocidade de difusão intraparticular. O efeito da resistência externa à transferência de massa não é significativo para $Bi \geq 100$ (BAYLEI e OLLIS, 1986).

$$Bi = \frac{K_s \cdot R}{D_{Ae}} \quad (11)$$

Em que:

K_s = coeficiente de transferência de massa líquido-sólido ($\text{cm}^3 \text{s}^{-1}$).

Baylei e Ollis (1986) apresentaram um critério, tabela 1, para avaliar a magnitude dos efeitos de transferência de massa intraparticular em sistemas com células imobilizadas. A partir dessa tabela pode-se verificar que se o módulo de Thiele observado for menor do que 0,3, a cinética não estará limitada pela difusividade. Por outro lado, se o módulo de Thiele observado for maior do que 0,3 a resistência à transferência de massa é significativa e a velocidade de difusão intramolecular é a limitante do processo.

Tabela 1 - Critério para avaliação da magnitude dos efeitos de transferência de massa na cinética global

Critério	Valor n	Velocidade limitante	Extensão da limitação
$\varphi < 0,3$	~ 1	Reação química	Desprezível
$\varphi > 3$	$\propto \varphi^{-1}$	Difusão	Grande

Fonte: Baylei e Ollis (1986, p.213).

Os parâmetros cinéticos intrínsecos são dependentes da característica do lodo e da composição de substrato, assim como das condições ambientais em que se encontram. Por isso, estes devem ser estimados para cada água residuária e lodo, sob condições ambientais e operacionais específicas (VIEIRA, 1996).

Na figura 1 está representado o fenômeno de transferência de massa e o processo de interação das reações em sistemas sólido-líquido. No esquema apresentado, a biopartícula está em contato com a solução de substrato em ambos os lados. O substrato adentra a lâmina da biopartícula pelo fenômeno de difusão molecular, da mesma forma o produto é formado e transportado para fora da biopartícula. Nas proximidades da superfície da biopartícula é formada uma camada estagnada de líquido. A única forma de o substrato chegar à zona de reação da biopartícula é através da difusão dessa camada, visto que não há transporte convectivo na mesma. A difusão molecular no meio líquido é influenciada diretamente pela concentração do substrato. Como alternativa para reduzir a resistência da camada estagnada ao redor da biopartícula, podem-se adotar sistemas com agitação ou com velocidades superficiais do líquido suficientemente altas (BAYLEI e OLLIS, 1986).

A resistência interna a transferência de massa é influenciada pela difusão intraparticular. Esta resistência é inversamente proporcional ao tamanho da partícula (BAYLEI e OLLIS, 1986).

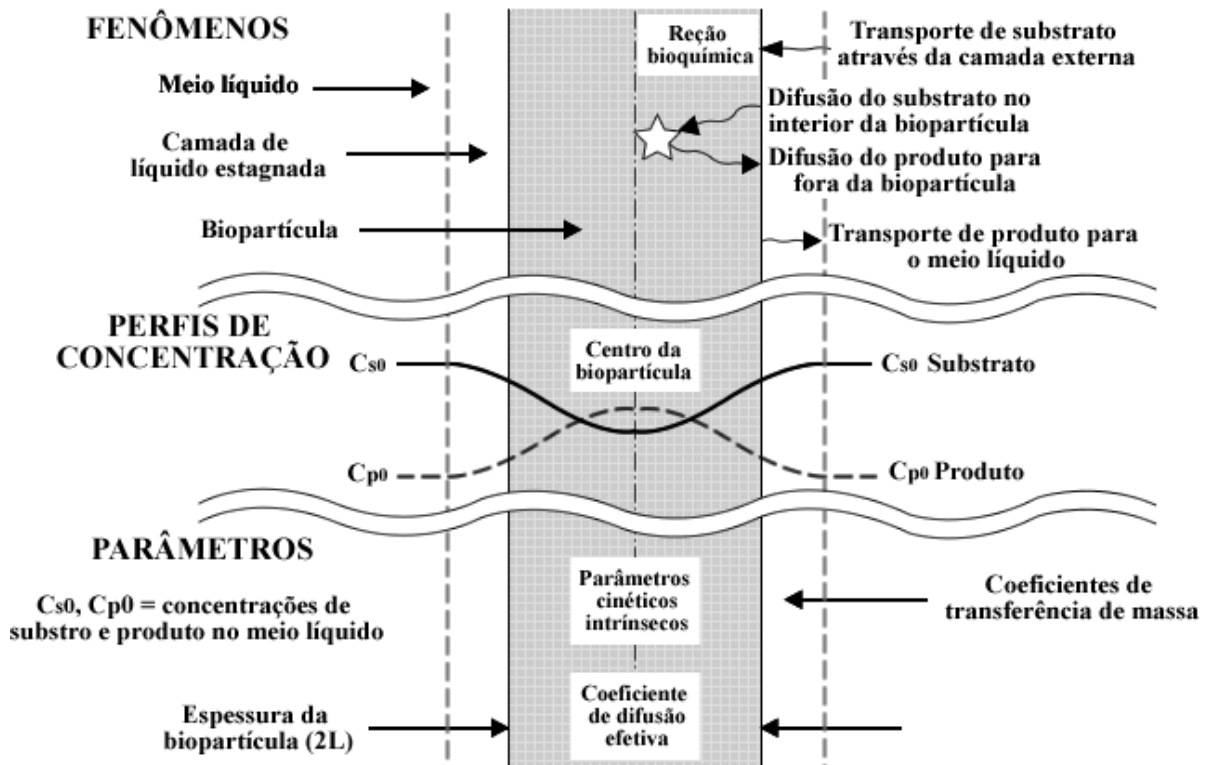


Figura 1 - Esquema representativo das interações entre transporte de massa e reações bioquímicas em uma lâmina simétrica de uma biopartícula.

Fonte: Adaptado de Bailey e Ollis (1986) e Moraes (2012).

3.4.1 Reatores contendo biomassa imobilizada

Os reatores com células imobilizadas apresentam diversos benefícios em relação aos reatores com células livres, como maior produtividade volumétrica, reutilização contínua de células e processamento *downstream* simplificado, porém nesse tipo de reator os efeitos de transferência de massa limitam a taxa de suprimento de nutrientes e a remoção do produto dos suportes de imobilização (BRINGI e DALE, 1990).

Os reatores diferenciais são amplamente utilizados para estimativa de parâmetros cinéticos e avaliação dos efeitos de resistência à transferência de massa (DAMASCENO, 2008; FAZOLO, 2003; MORAES; FOREST, 2012; VIEIRA, 1996). Esse tipo de reator também é utilizado para avaliar a dinâmica do processo de formação do biofilme em suportes inertes e analisar os sólidos totais voláteis colonizados em matrizes (RIBEIRO, 2001; RODRIGUEZ, 2010).

Em 1939, Thiele apresentou uma análise matemática entre reatividade e fluxo difusivo em poros de partículas catalíticas (WEISZ, 1973).

Weisz (1973) realizou uma revisão bibliográfica das literaturas presentes na engenharia química e fisiologia, mostrando as relações entre as diversas disciplinas e os parâmetros que controlam a difusão, mostrando exemplos como a transformação catalítica de estrutura de hidrocarbonos.

Meyer, Hegedus e Aris (1976) forneceram um gráfico no qual se pode encontrar o fator de correção para geometria esférica e ser utilizado na equação de Weisz para encontrar o coeficiente de difusão efetivo.

Henze e Harremoës (1983) fizeram uma revisão bibliográfica sobre o tratamento anaeróbio de águas residuárias em reatores com biomassa imobilizada. No trabalho são discutidos os parâmetros cinéticos, a influência da temperatura, substâncias tóxicas, nutrientes e pH na performance do processo, assim como os vários tipos de configuração possíveis de reatores.

Furusaki e Seki (1985) estudaram o efeito da resistência à difusão através da fermentação alcoólica utilizando células de *saccharomyces cerevisiae* imobilizadas em gel de alginato.

Wang et al. (1986) desenvolveram um modelo matemático para reator de leito expandido com carvão ativado na forma granular. Foram incorporados no modelo os conceitos de transferência de massa, difusão molecular no biofilme e cinética de Monod. A cinética do biofilme foi caracterizada como totalmente penetrada, sem resistência significativa na resistência à transferência de massa externa.

Bringi e Dale (1990) realizam um estudo sobre o transporte de nutriente convectivo em suportes com células imobilizadas. Avaliaram a interação entre a transferência de massa e a cinética de reação na conversão anaeróbia de glicose para CO₂ e etanol utilizando levedura imobilizada no disco rotativo poroso acoplado no eixo do agitador em reator CSTR (Reator tanque agitado contínuo). Para avaliar a difusão nos poros, foi utilizado o módulo de Weisz. Para as condições em que os efeitos de difusão nos poros eram maiores e, por isso, fatores de baixa efetividade, os autores observaram que as limitações da difusão foram parcialmente diminuídas pelo transporte convectivo de glicose para o suporte.

Vieira (1996) avaliou os parâmetros cinéticos intrínsecos em três condições: biomassa imobilizada em espuma de poliuretano proveniente de reator anaeróbico horizontal de leito fixo (RAHLF); biomassa granular oriundo de reator de manta de lodo de fluxo ascendente tratando água residuária de indústria de papel reciclado; e lodo floculento proveniente de reator de manta de lodo de fluxo ascendente tratando esgoto doméstico. O substrato utilizado foi constituído de água residuária sintética. A autora utilizou uma mesa rotativa incubadora “shaker” variando a agitação de 50 a 300rpm. Os perfis de concentração de substrato no meio líquido foram avaliados ao longo do tempo para cada velocidade de agitação. A autora constatou que em agitações maiores que 150 rpm, houve desprendimento completo da biomassa aderida nas matrizes de espuma de poliuretano, porém essa biomassa se manteve na forma de microgrânulos. A magnitude dos efeitos da resistência à transferência de massa intraparticular foi avaliada através do módulo de Thiele observado (ϕ), os valores obtidos foram significativamente menores do que 0,3, e por isso, de acordo com o critério de Baylei e Ollis, os efeitos da resistência à transferência de massa intraparticular puderam ser desprezados.

Vela et al (1999) aplicaram uma metodologia para estimar a difusividade efetiva de substratos em biopartículas. No trabalho foram estimados os valores de difusividade da glicose, sacarose e acetato em biopartículas de gel de alginato, os valores encontrados correspondem a $0,58 \cdot 10^{-5} \text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, $1,06 \cdot 10^{-5} \text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, $1,49 \cdot 10^{-5} \text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, respectivamente.

Zaiat et al (2000) avaliaram os efeitos de transferência de massa interna e externa em reatores anaeróbios de leito fixo para tratamento de água residuária. Foram utilizados dois reatores preenchidos com espuma de poliuretano para imobilização da biomassa, um em escala piloto utilizando esgoto doméstico e o outro em escala de bancada utilizando glicose como substrato. A velocidade superficial empregada foi de $360 \text{cm} \cdot \text{h}^{-1}$. Os autores chegaram a conclusão que a transferência de massa na fase sólida foi o passo limitante na taxa de conversão global do reator em escala piloto, por outro lado, a transferência de massa na fase líquida foi quem afetou a taxa de conversão global no reator em escala de bancada.

Utgikar et al (2001) estudaram os efeitos inibitórios das BRS devido ao impacto causado por metais pesados dissolvidos em biorremediação de drenagem ácida de minas. A exposição a um químico tóxico pode resultar em morte ou decaimento na taxa metabólica. Pode ser classificado como tóxico (morte) ou inibitório (redução atividade metabólica). Os metais dissolvidos apresentam ambos os efeitos. O objetivo desse trabalho foi apresentar e caracterizar a inibição por sulfeto metálico na atividade redução de sulfato observada durante o estudo de toxicidade de metais conduzido em uma cultura mista de BRS. Um dos mecanismos de inibição é por fenômeno físico, o sulfeto metálico deposita-se na superfície das BRS ou são concentrados na vizinhança das células das bactérias e atrapalham ainda mais o metabolismo por impedir o contato entre os reagentes e as enzimas necessárias.

Domingues (2001) estudou o crescimento e as interações de microrganismos em duas situações, sendo uma em reator batelada com células planctônicas e a outra em reatores diferenciais com biofilme, ambas em condições termófilas (55°C). O trabalho teve como objetivo a caracterização dos microrganismos presentes em ambos os reatores e a avaliação da metanogênese e sulfetogênese. Os experimentos foram realizados utilizando meio de cultivo contendo acetato de sódio, lactato de sódio e propionato de sódio, na presença de sulfato de sódio. A autora concluiu que em reatores em batelada, na condição de cultivo com acetato e sulfato, ocorreu equilíbrio entre metanogênese, oxidação de acetato e sulfetogênese, enquanto no biofilme foram favorecidos somente a metanogênese e oxidação de acetato. Por outro lado a condição utilizando lactato e sulfato favoreceu a sulfetogênese em ambos os reatores. No reator diferencial, alimentado com propionato e sulfato ocorreu fermentação com crescimento sintrófico entre oxidadoras de propionato, metanogênicas e redutoras de sulfato hidrogenotróficas.

Ribeiro (2001) verificou a influência dos substratos na dinâmica de formação de biofilme em matrizes de poliuretano, utilizando reatores diferenciais de leito fixo, em condições mesófilas (25°C). Os substratos utilizados foram extrato de carne, glicose, amido, lipídeos e esgoto sanitário

sintético. Por meio das análises de microscopia eletrônica de varredura, o autor verificou que os polímeros extracelulares podem estar ligados ao entupimento de reatores de leito fixo, devido à permanência no interior dos suportes e nos interstícios do leito, causando problemas operacionais.

Fazolo (2003) avaliou os parâmetros cinéticos e de transferência de massa em reator radial aeróbio-anóxico de leito fixo, com biomassa imobilizada em espuma de poliuretano. Esse reator era alimentado com o efluente de um reator anaeróbio horizontal de leito fixo que tratava esgoto sanitário. O autor chegou a conclusão que os parâmetros estimados afetam consideravelmente a velocidade global de consumo de oxigênio no sistema de leito fixo e que a agitação mecânica pode minimizar essas resistências.

Moosa, Nematí e Harrison (2005) estudaram o efeito da temperatura na cinética anaeróbia na redução do sulfato. No estudo foi utilizado biorreatores contínuos usando acetato como fonte de carbono. A faixa de temperatura aplicada foi de 20 a 35°C. A cinética da reação é dependente da temperatura. Além disso, também é relacionada com a concentração de sulfato dissolvido (MOOSA; NEMATÍ; HARRISON, 2002).

Yuanxiang e Govind (2008) desenvolveram um novo cálculo para o módulo de Thiele, o qual permite encontrar o fluxo de transferência de massa e o fator de efetividade em sistemas com biofilmes para o modelo de Monod, considerando que existe uma transição entre a cinética de ordem zero e primeira ordem.

Deng, Weidhaas e Lin (2016) realizam um estudo em biorreator sulfetogênico usado para co-tratamento de DAM e águas residuais municipais. A pesquisa teve como foco a cinética, os efeitos inibidores do ferro e a ecologia microbiana. A cinética de degradação de DQO e a inibição por ferro foram modeladas para caracterizar o tratamento biológico. Através da modelagem de oxidação da DQO por meio da cinética de Michaelis-Menten, os autores obtiveram os seguintes valores: $v_{max} = 0,33\text{mg.L}^{-1}\text{min}^{-1}$ e $k_m = 4,3\text{mg.L}^{-1}$. Os autores concluíram que níveis excessivos de ferro devem ser evitados para limitar seus efeitos nas BRS. A concentração de 60mg.L^{-1} inibiu completamente os biorreatores sulfetogênicos.

Assim como a biomassa granular, os flocos de lodo ativado são amplamente utilizados para o tratamento de efluentes (SPERLING, 2018). Embora os dois métodos sejam utilizados para o mesmo objetivo, possuem características peculiares que os diferem em diversos aspectos, principalmente porque os grânulos se comportam como biofilmes. Flocos e grânulos diferem no tamanho, sendo que o primeiro apresenta tamanho de partícula menor do que 0,2mm e o segundo apresenta tamanho de partícula maior que 0,2mm, densidade, grau de agregação microbiana e gradientes internos de substrato e produtos (WINKLER et al., 2018). Os flocos não são afetados pela resistência a transferência de massa, diferentemente dos grânulos, onde há a difusão dos substratos e existe a possibilidade de ocorrer à resistência a transferência de massa (PICIOREANU, PÉREZ, VAN LOOSDRECHT, 2016).

Os biofilmes podem alterar dinamicamente a estrutura dos poros em suportes através do entupimento dos mesmos, processo conhecido como *bioclogging*. O crescimento do biofilme reduz espaços porosos em zonas de baixa velocidade, o que irá diminuir o diâmetro dos poros e, conseqüentemente, reduzir a velocidade. Uma vez que as zonas de baixas velocidades se tornam menos condutiva, há maior fluxo em regiões de maior velocidade, fazendo com que haja formação de vias preferenciais (CARREL et al., 2018). Ostvar et al. (2018) utilizaram microtomografia computadorizada de raios X para avaliar a influência da taxa de fluxo no crescimento tridimensional do biofilme em meios porosos.

As taxas mais possíveis de ser encontradas em tratamentos de efluentes são a de ordem zero e primeira ordem e reações de saturação. Na reação de ordem zero, a taxa de reação não depende da concentração do reagente, ou seja, ela é a mesma para a qualquer concentração de reagente. A reação de primeira ordem possui uma taxa de reação diretamente proporcional à concentração do reagente. A reação de segunda ordem possui uma taxa de reação proporcional ao quadrado da concentração do reagente. As reações de saturação baseiam-se nas reações enzimáticas, cuja cinética foi proposta por Michaelis-Menten. Essa reação pode ser utilizada para descrever a cinética de crescimento bacteriano e as reações de decomposição

do esgoto. Pode representar aproximadamente as cinéticas de ordem zero quanto às de primeira ordem, assim como a transição entre as mesmas (SPERLING, 2018).

4 METODOLOGIA

4.1 DESCRIÇÃO DOS REATORES DIFERENCIAIS

O aparato experimental foi constituído de cinco reatores diferenciais operando em paralelo. A biomassa foi utilizada na forma granular. A alimentação com a água residuária rica em sulfato foi realizada pelo bombeamento contínuo através de uma bomba peristáltica Gilson Minipuls. Os reatores foram instalados em uma câmara com temperatura controlada à $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Cada reator possui um frasco Duran de 250ml onde o meio é mantido sob agitação e recirculado em circuito fechado. A representação esquemática do conjunto experimental está representada na Figura 2.

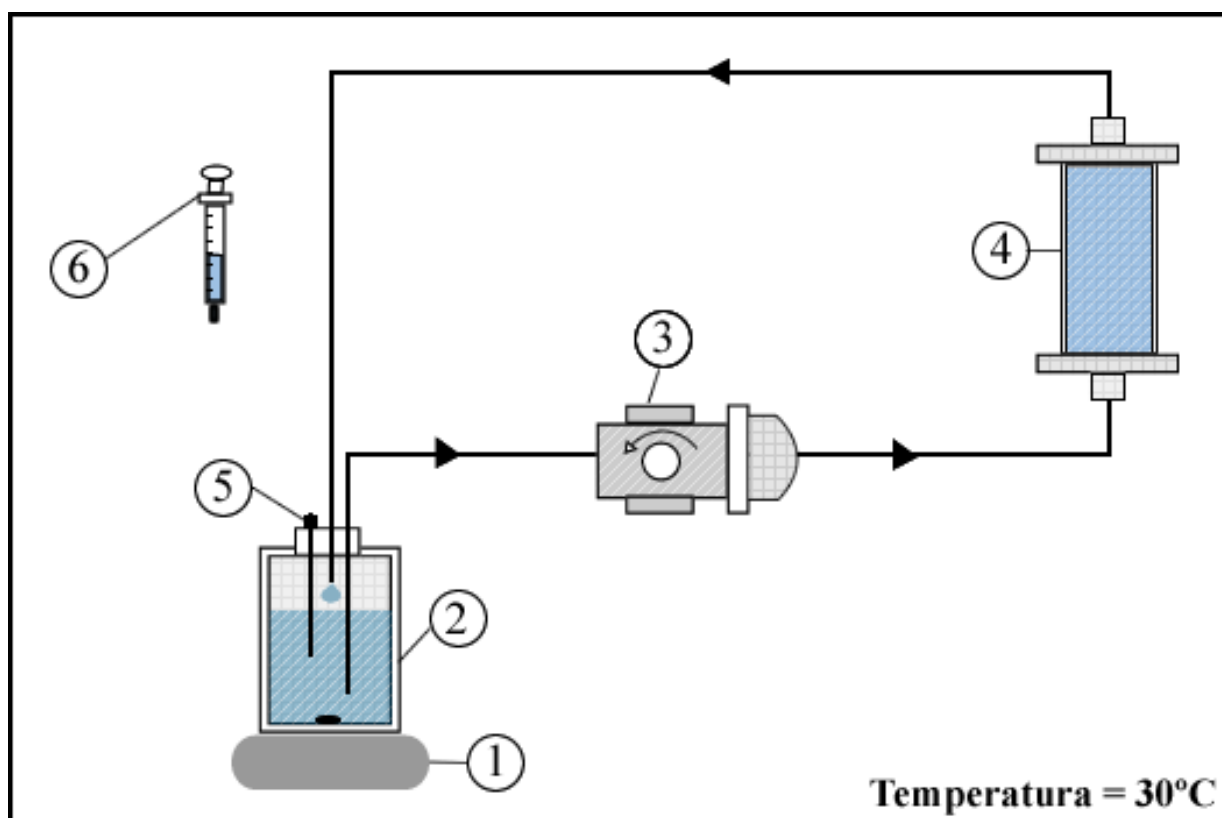


Figura 2 - Representação do sistema em escala de bancada.

Fonte: Da autora.

Nota: (1) agitador magnético (2) afluente, (3) bomba de alimentação, (4) reator diferencial com biomassa em forma de grânulo (5) amostrador, (6) seringa utilizada para retirar as amostras, — linhas hidráulicas.

Os reatores diferenciais foram confeccionados em acrílico. O corpo cilíndrico dos reatores tem as seguintes dimensões: 5,11cm de altura, 3,2cm de diâmetro externo e 2,59cm de diâmetro interno, totalizando um volume de 27ml. As linhas hidráulicas contabilizam o volume de 18,9ml. O escoamento nos reatores ocorre na posição vertical. Na parte inferior do corpo principal, está posicionado o módulo receptor, o qual irá transferir o afluente vindo das mangueiras de alimentação para o reator. O cabeçote, localizado na parte superior do corpo do reator, é responsável por retornar a DAM novamente para os respectivos frascos. Para melhor distribuição de fluxo e assim minimizar a presença de caminhos preferenciais e zonas mortas dentro dos reatores, foi acoplado telas de plástico nas suas entradas e saídas. Essas telas impedem que ocorra o arraste da biomassa granular. O reator diferencial é representado na figura 3.

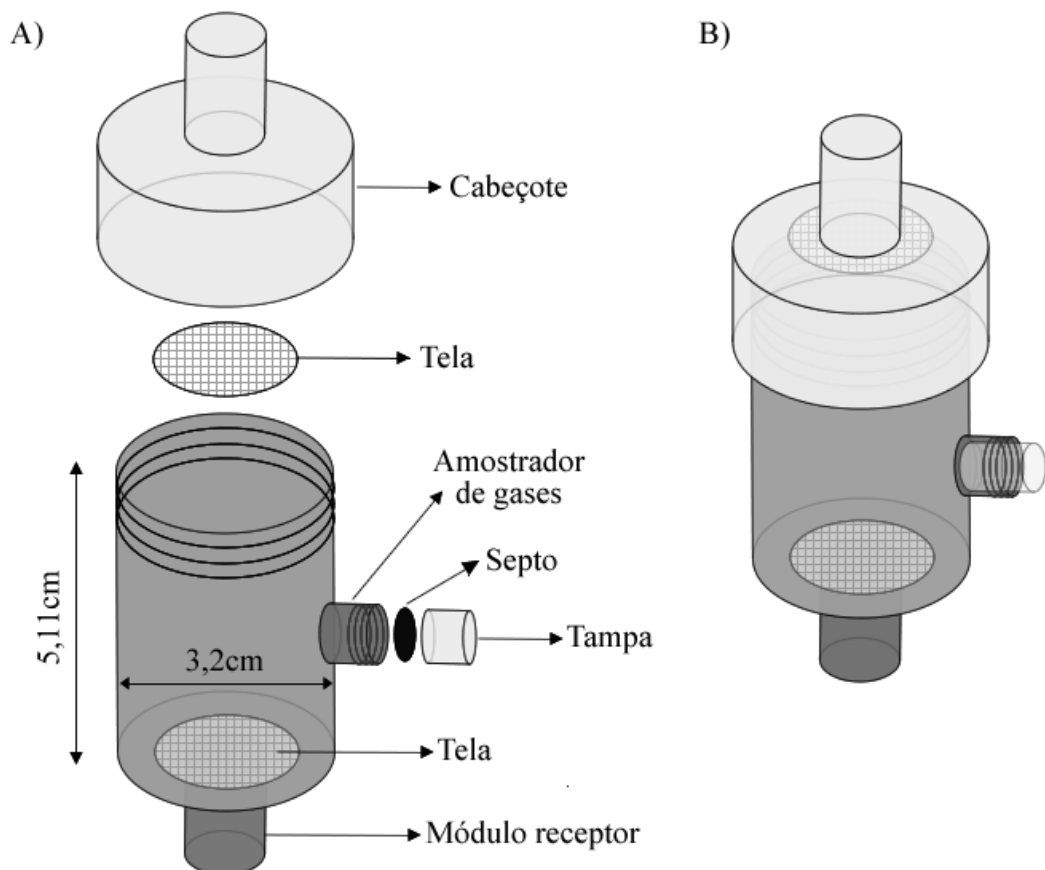


Figura 3 - Representação do reator diferencial desmontado (a) e montado (b).
Fonte: Da autora.

4.2 INÓCULO

O inóculo utilizado foi proveniente do trabalho realizado por Pereira (2017), no qual foi estudado diferentes estratégias de operação, variando a fonte de carbono e cargas de sulfato em um reator UASB para o tratamento de drenagem ácida de mina, realizado em pH ácido.

O inóculo estava guardado em recipiente sob refrigeração com presença de drenagem para impedir a secagem da biomassa. O primeiro passo baseou-se em passar a biomassa em uma peneira para drenar o líquido presente, conforme representado pela Figura 4 (a), e posteriormente transferiu-se essa biomassa para os reatores diferenciais, como é mostrado pela Figura 4 (b).

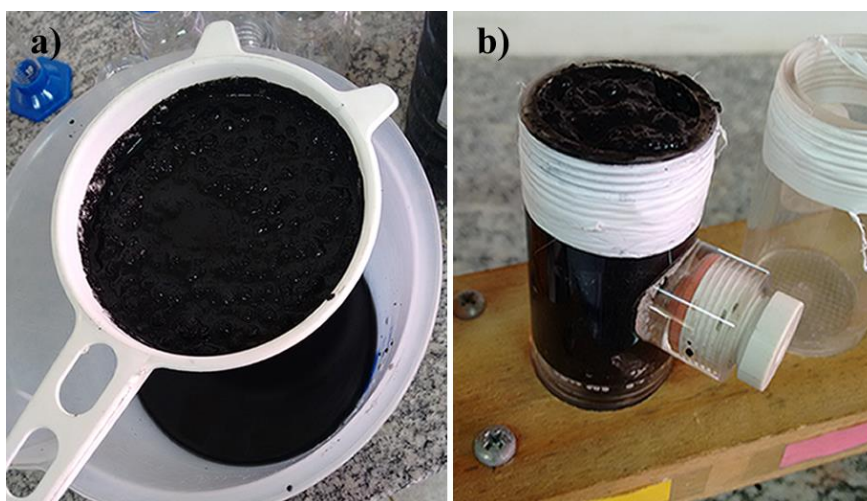


Figura 4 - Foto do peneiramento da biomassa granular (a) e biomassa nos reatores diferenciais (b).

Fonte: Da autora.

4.3 DAM SINTÉTICA E FONTE DE CARBONO

Para simular a água residuária de drenagem ácida de mina, foi formulada uma solução sintética, conforme apresentado pela tabela 2. A fonte de carbono utilizada foi o etanol. O etanol apresenta baixo custo e sua utilização em escala ampliada torna o processo mais simples comparado com outras fontes de carbono. Dentre os doadores de elétrons disponíveis, o etanol apresenta o melhor custo-benefício (LIAMLEAM, 2007).

Devido à volatilidade do etanol, adicionou-se no cálculo 15% a mais do volume relativo à respectiva DQO.

Adotou-se a relação DQO/SO₄²⁻ de 2 durante todas as condições do experimento. Essa relação foi estabelecida por apresentar alta eficiência de remoção de sulfato em pH ácido (PEREIRA, 2017; PIMENTA, 2014; TOLEDO FILHO, 2018).

Para o preparo da DAM, pesavam-se os reagentes em béqueres separados. Primeiramente adicionavam-se os sais de zinco e cobre em um béquer de 1 litro, em seguida esse béquer era levado para agitação em agitador magnético. O sulfato de sódio era adicionado logo após a dissolução dos metais. A solução era transferida para um galão de 5 litros, volume estipulado para cada preparação. A água utilizada foi de abastecimento público. O pH de entrada para todos os experimentos variou entre 3,2 e 3,3 sendo corrigido através de solução de ácido clorídrico (HCl) 4M. Após a correção do pH foi possível adicionar o sulfato ferroso, de forma a evitar a possibilidade desse íon ser convertido em formas insolúveis, e causar alteração nos resultados pela probabilidade de ocorrer a sua remoção por fenômeno físico-químico antes mesmo de começar o processo de tratamento nos reatores. O etanol foi o último a ser incorporado na solução por sua alta volatilidade e possível perda para a atmosfera. O meio que não fosse utilizado era guardado em freezer para ser usado posteriormente na adaptação da biomassa na próxima fase.

O volume de 250ml era medido em balão volumétrico e vertido nos 5 frascos duran acoplados ao reator.

Tabela 2 - Solução sintética da drenagem ácida de mina

Componente	Forma	Concentração do componente (mg.L ⁻¹)
SO ₄ ²⁻	Sulfato de sódio anidro	250 e 500
Fe ²⁺	Sulfato ferroso heptahidratado	25
Zn ²⁺	Sulfato de zinco heptahidratado	20
Cu ²⁺	Sulfato de cobre pentahidratado	5
Etanol (DQO)	Álcool etílico 96°GL hidratado	500 e 1000

Fonte: Da autora.

4.4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.4.1 Montagem e adaptação

Os reatores diferenciais foram montados em um aparato de madeira, conforme representado pela figura 5. Para adaptação da biomassa, os biorreatores foram operados em modo contínuo com o meio contendo 500mg.L^{-1} de sulfato, 1000mg.L^{-1} de DQO, 20mg.L^{-1} de Sulfato de zinco e 5mg.L^{-1} de Sulfato de cobre por dois dias. Após esse período a biomassa passou por adaptação em circuito fechado por duas semanas, sendo que o meio era trocado a cada dois dias. A figura 6 mostra o sistema operando em modo batelada.

A velocidade de escoamento nos biorreatores inicialmente foi de $0,07\text{cm.min}^{-1}$, definida em função da velocidade que normalmente é utilizada nos reatores horizontais com TDH de 24h (DAMASCENO, 2008; PEREIRA, 2017; RODRIGUEZ, 2010).



Figura 5 - Foto dos reatores diferenciais

Fonte: Da autora.

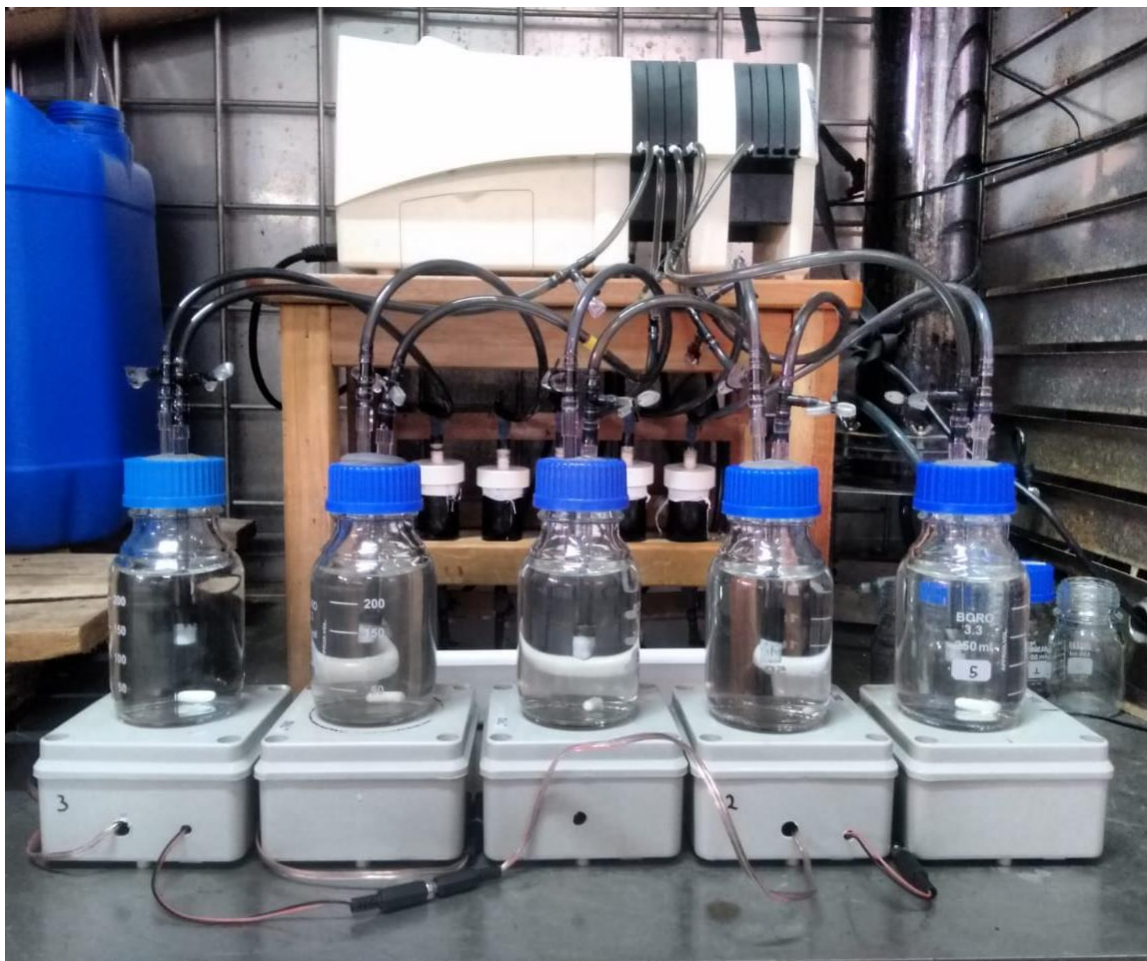


Figura 6 - Foto dos reatores diferenciais operando em sistema batelada.
Fonte: Da autora.

Os agitadores magnéticos foram operados em baixas velocidades, de forma a impedir a aeração no meio.

4.4.2 Fase preliminar

Foram realizados experimentos para avaliar o tempo da reação, ou seja, quanto tempo demoraria para cair a concentração de sulfato e produzir sulfeto para determinado volume no sistema. Essa fase foi chamada de fase preliminar e teve como objetivo encontrar a melhor condição para realizar as fases subsequentes.

O pH do meio foi mantido em valores extremos (menor do que 3,5) e a temperatura em $30 \pm 1^\circ\text{C}$. A concentração de ferro reduzido no afluente não foi aplicada na fase preliminar.

A fase preliminar permitiu avaliar o comportamento do sistema e foi composta por quatro fases. O volume e o tempo foram modificados para cada uma delas, conforme representado pela tabela 3.

Nesta etapa foram realizados testes com volume de 100ml, 150ml e 300ml no sistema. No volume do sistema está sendo contabilizado o volume do frasco mais o volume que existe no conjunto mangueira e reator, 50ml, aproximadamente.

O volume do conjunto mangueira e reator encontrado através dos cálculos correspondem a 45,9ml, porém existe um valor de volume retido nos conectores da mangueira e no cabeçote do reator. Para confirmar essa hipótese, drenou-se em uma proveta (erro de ± 1 ml) o volume preenchido nesse sistema. O volume encontrado através da medição em proveta foi de 50ml, portanto este foi o valor considerado.

Tabela 3 - Testes da fase preliminar

Teste	pH	Volume total do sistema (ml)	Tempo de ciclo (h)
1	3,5	100	48
2	3,3	150	48
3	3,3	100	20
4	3,3	300	48

Fonte: Da autora.

4.4.3 Operação dos perfis cinéticos

O experimento funciona sob os seguintes passos: i) alimentação contínua com a DAM sintética para adaptação dos microrganismos a novas condições; ii) colocar o sistema em modo batelada e realizar as análises conforme descrito nos métodos representados na seção 4.5.

As fases foram realizadas em quintuplicata, ou seja, todos os reatores operaram sob a mesma condição para cada etapa estudada.

Os reatores foram operados em bateladas de 48h. As amostras foram coletadas a cada 12h para realização dos perfis temporais. Foram estudadas sete fases, na qual foram testadas duas concentrações de sulfato e três velocidades superficiais, começando pela velocidade de $0,07\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$,

conforme representado pela tabela 4. A fase VII foi realizada sob as mesmas concentrações da fase IV, V e VI, o que a diferencia das demais é o volume do frasco duran, estabelecido como sendo 100ml, enquanto nas fases I a VI o volume utilizado no frasco duran foi igual a 250ml. Essa fase teve como objetivo prever o comportamento dos reatores caso o tempo de ciclo fosse maior que 48h, visto que a diminuição do volume, nesse caso, apresenta o mesmo efeito que aumentar o tempo da reação.

O experimento foi realizado em circuito fechado, por isso, neste caso não existe conceito de TDH. Entretanto, como forma de avaliar a diferença que a velocidade provocou no experimento, foi apresentada na tabela 4 o número de vezes em que o volume total foi trocado no tempo de 48h e a vazão para cada velocidade.

Tabela 4 - Estratégia de alimentação para diferentes velocidades superficiais

Fase	Velocidade (cm.min ⁻¹)	SO ₄ ²⁻ (mg.L ⁻¹)	DQO (mg.L ⁻¹)	Q (cm ³ .min ⁻¹)	Número de troca de volume do efluente
Fase preliminar 4	0,07	500	1000	0,38	3,62
I	0,07			0,38	3,62
II	0,35	500	1000	1,89	18,1
III	1,75			9,43	90,5
IV	0,07			0,38	3,62
V	0,35	250	500	1,89	18,1
VI	1,75			9,43	90,5
VII	1,75	250	500	9,43	90,5

Fonte: Da autora.

4.5 FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS

As análises para monitoramento dos reatores foram realizadas por meio dos métodos descritos pelo *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (RICE et al., 2012).

As análises e as metodologias utilizadas são descritas a seguir:

- a) Análise de matéria orgânica (DQO) - 5220 D (colorimétrico de refluxo fechado). As amostras foram filtradas em 0,45µm.
- b) pH - método 4500-H⁺ B (eletrométrico).

- c) Alcalinidade - método titulométrico desenvolvido por Ripley et al. (1986).
- d) Sulfato (SO_4^{2-}) - método 4500- SO_4^{2-} E (turbidimétrico).
- e) Sulfeto total dissolvido (S^{2-}) - método 4500- S^{2-} D (azul de metileno).
- f) Metal Ferro (Fe^{2+}) – método da fenantrolina (colorimétrico).

As análises de DQO, sulfato, sulfeto e ferro foram realizados a cada 12h até completar o ciclo de 48h. Entretanto, as análises de pH e alcalinidade puderam ser executadas somente ao final do ciclo, este fato se deu porque o volume requerido ultrapassaria os 10% do volume total, porcentagem máxima estimada para evitar alterações nos resultados.

4.6 ANÁLISE DO TAMANHO DA BIOMASSA GRANULAR

Para o cálculo do módulo de Thiele observado (φ) representado pela equação 9, foi necessária a determinação da média dos raios equivalentes das biopartículas utilizadas no reator biológico. Por isso, foi apresentada uma metodologia para medição do tamanho dos grânulos anaeróbios, além de realizar a análise estatística descritiva desses dados.

Os grânulos foram homogeneizados, amostrados e dispostos em placas de Petri. Como referência de escala para o registro das imagens, foi utilizado um paquímetro com erro de $\pm 0,05\text{mm}$ em sua leitura. As imagens foram então importadas para um software CAD, com escalas ajustadas para cálculo da área de cada grânulo (Figura 7 (a)). Para a determinação da área, foi traçado o contorno de cada grânulo utilizando a ferramenta *splines*, conforme representado pela Figura 7 (b). Na Figura 8, apresenta-se uma amostra dos grânulos exibidos em maior aproximação para melhor visualização da técnica.

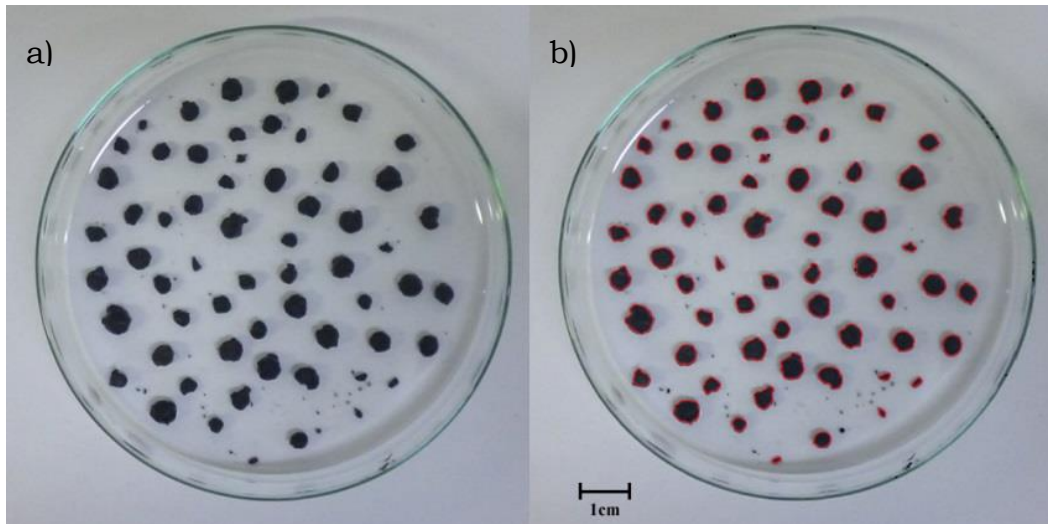


Figura 7 - Grânulos antes (a) e depois da determinação da sua área de projeção (b).

Fonte: Da autora.

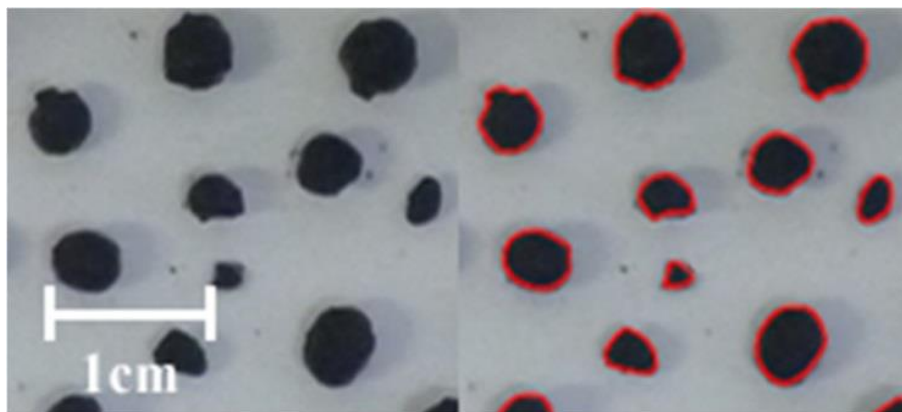


Figura 8 - Foto dos grânulos ampliada.

Fonte: Da autora.

O diâmetro e o raio equivalente dos grânulos foram calculados considerando que estes apresentam a mesma forma que uma partícula esférica (BAGHERI, 2015):

$$d = \sqrt{\frac{4 \cdot A}{\pi}} \quad (12)$$

Na equação (12) d representa o diâmetro equivalente a uma esfera que tem a mesma área projetada do grânulo e A é a área do grânulo obtida pelo software DraftSight®. A análise estatística descritiva foi realizada no software R, versão 3.4.4 (R CORE TEAM, 2018).

4.7 CONCENTRAÇÃO DE BIOMASSA NO REATOR

A concentração de biomassa no reator foi calculada através da metodologia para medição de sólidos totais voláteis (RODRIGUES et al., 2006). As análises foram feitas em duplicata.

Inicialmente mediu-se a quantidade de biomassa granular que foi utilizada nos reatores. Esse valor corresponde a 27ml e está representado na Figura 9 (a).

Calcinou-se uma cápsula de porcelana em forno tipo mufla a 550°C por 1 hora e em seguida, após o resfriamento em dessecador, a biomassa foi transferida para a cápsula e levada para uma estufa a 105°C por um período de 24 horas, conforme apresentado pela figura 9 (b). A massa foi medida após o resfriamento (M1) e sua imagem após a secagem corresponde à Figura 9 (c).

A amostra foi levada ao forno tipo mufla a 550°C por 2 horas. O valor encontrado da cápsula após resfriamento foi anotado (M2), a imagem é representada pela Figura 9 (d).

A fórmula para o cálculo encontra-se na equação 13:

$$STV = \frac{M1 - M2}{V} \quad (13)$$

Onde:

M1 = Massa da cápsula após secagem em estufa (g)

M2 = Massa da cápsula após secagem em mufla (g)

V = Volume da amostra (ml)

Através da equação 13, encontrou-se o valor da concentração de biomassa, representado em gSTV.ml⁻¹.

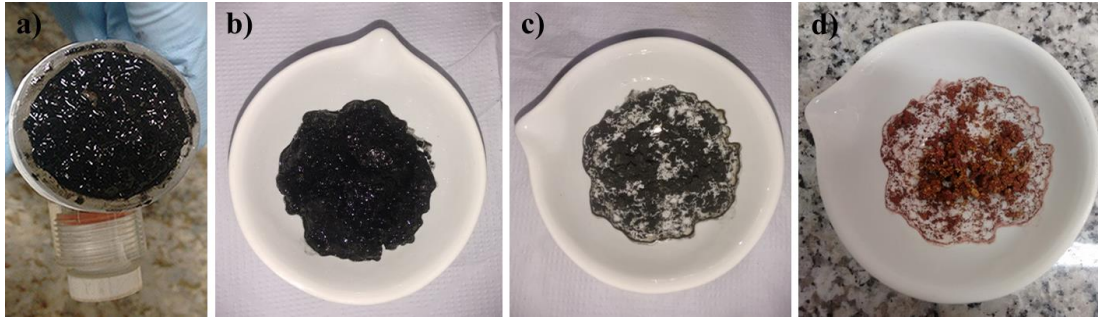


Figura 9 - Fotos dos passos para obtenção da concentração de biomassa no reator.

Fonte: Da autora.

4.8 PARÂMETROS CINÉTICOS

Para a determinação dos parâmetros cinéticos e dos fenômenos de resistência à transferência de massa baseou-se em metodologias proposta por Zaiat (1997) e Vieira (1996).

Para encontrar os parâmetros cinéticos, foi necessário realizar perfis de concentração de substrato no meio líquido (C_a) ao longo do tempo (t), para cada velocidade superficial (v_s). Através desses perfis foi possível ajustar equações polinomiais de segundo grau, conforme representado pela equação 14.

$$Ca = at^2 + bt + c \quad (14)$$

Neste sistema, o substrato foi recirculado em circuito fechado, por isso os reatores diferenciais foram considerados como reatores batelada de volume constante. Desta forma, as velocidades específicas de utilização de substrato observadas ($r_{A,obs}$) ao longo do tempo (t_i), foram calculadas em função de C_a para cada (v_s) aplicada, como apresentado na equação 15.

$$r_{obs}|_{t=t_i} = -\left. \frac{DCa}{dt} \right|_{t=t_i} = -2at_i - b \quad (15)$$

A resistência à transferência de massa intrapartícula foi calculada por meio da fórmula do módulo de Thiele observado (φ), definido na equação (9) da seção 3.4. Para isso foi utilizado o método das velocidades iniciais. A difusividade efetiva do substrato na biopartícula foi considerada como sendo

a difusividade do etanol em solução aquosa ($D_e = 1,28 \cdot 10^{-5} \text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$), apresentada por Perry e Green (2008 p.457).

Supondo que a velocidade de consumo de substrato ocorra de acordo com a equação cinética de primeira ordem (equação 16), pode ser estimado o parâmetro de primeira ordem intrínseco (k_1).

$$r = K_1 \cdot C_a \quad (16)$$

Onde:

K_1 = constante cinética de primeira ordem (h^{-1}).

Considerando que (r) é igual a (r_{obs}) as equações 15 e 16 podem ser igualadas, resultando na equação integrada 19, sob o seguinte desenvolvimento:

$$-\frac{dC_a}{dt} = k_1 \cdot C_a \quad (17)$$

$$-\int_{C_{a0}}^{C_a} \frac{dC_a}{C_a} = k_1 \int_0^t dt \quad (18)$$

$$\ln \frac{C_a}{C_{a0}} = -k_1 \cdot t \quad (19)$$

Onde:

C_{a0} = concentração inicial de substrato no meio líquido ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$).

A partir dos resultados experimentais de C_a foram obtidos perfis de $\ln(C_{a0}/C_a)$ em função de (t) . Através de regressão linear foi possível obter o parâmetro k_1 .

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTATÍSTICA DESCRITIVA DA BIOMASSA GRANULAR

A estatística descritiva tem como principal finalidade resumir e descrever os dados de forma a proporcionar melhor entendimento dos mesmos. Através da equação 12, descrita na seção 4.6, foi possível encontrar os valores do diâmetro equivalente. Entretanto, os valores explanados nesse item foram representados em função do raio equivalente.

Na Tabela 5, são apresentados os dados resultantes da estatística descritiva dos dados experimentais.

Tabela 5 - Estatística descritiva dos raios equivalentes

Tamanho amostral	268
Unidade	mm
1° quartil	1,447
Mediana	1,964
Média	1,835
3° quartil	2,263
Variância	0,030
Desvio Padrão	0,551
Amplitude	2,440

Fonte: Da autora.

No diagrama de ramo e folha apresentado no Apêndice A, estão representados todos os valores dos raios equivalentes encontrados. O menor raio equivalente encontrado foi de 0,43mm e o valor máximo foi de 287mm. A maioria dos dados está entre 1,80 e 2,50mm.

Na Figura 10 é apresentado o boxplot exibindo a variabilidade dos dados obtidos. Cinquenta por cento dos grânulos estiveram entre 1,447 e 2,263 mm de raio. Pelos valores de variância, pode-se concluir que os raios equivalentes estão mais concentrados ao redor da média, porém com coeficiente de variação em torno de 30%. O valor da mediana é mais próximo do terceiro quartil, indicando que o valor da média aritmética foi influenciado pelos valores extremos inferiores dos resultados experimentais.

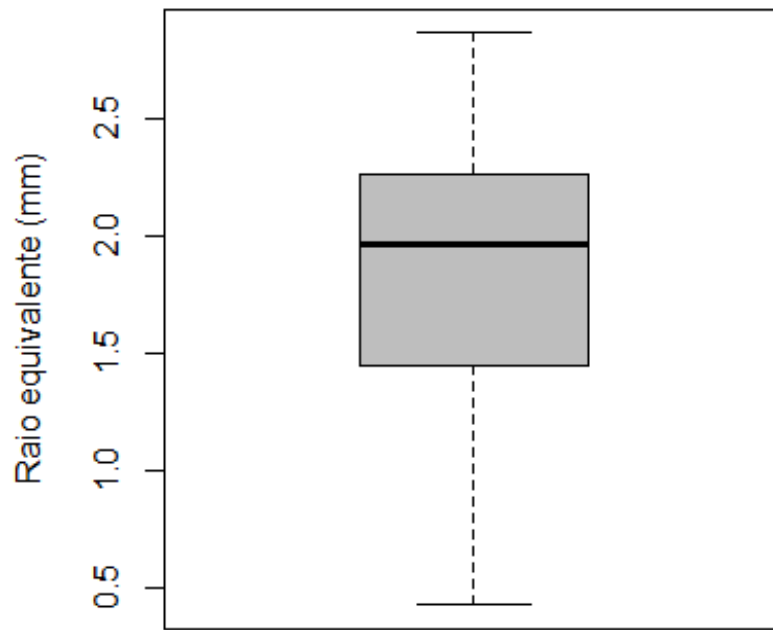


Figura 10 - Boxplot dos dados experimentais.

Fonte: Da autora.

Na Figura 11 são apresentados os histogramas de densidade estimada (a) e frequência (b). O histograma de densidade e frequência é uma ferramenta gráfica que mostra a frequência de uma ocorrência (representado pelo eixo vertical), num determinado intervalo de classe (representado pelo eixo horizontal).

Por meio do boxplot e histogramas apresentados nas Figuras 10 e 11, é possível avaliar a proporção dos dados e sua dispersão. Na Figura 11 (a) verifica-se que a densidade estatística estimada (vermelho pontilhado) aproxima-se de um formato típico de distribuição normal, apesar de apresentar uma leve tendência assimétrica negativa. Para confirmar essa hipótese foi gerada a distribuição normal teórica a partir dos dados experimentais (Figura 11 (b) – linha azul). Uma teoria para os dados apresentaram essa característica, é devido à forma de seleção dos grânulos, que foram realizadas manualmente, podendo gerar uma triagem desigual entre os mesmos.

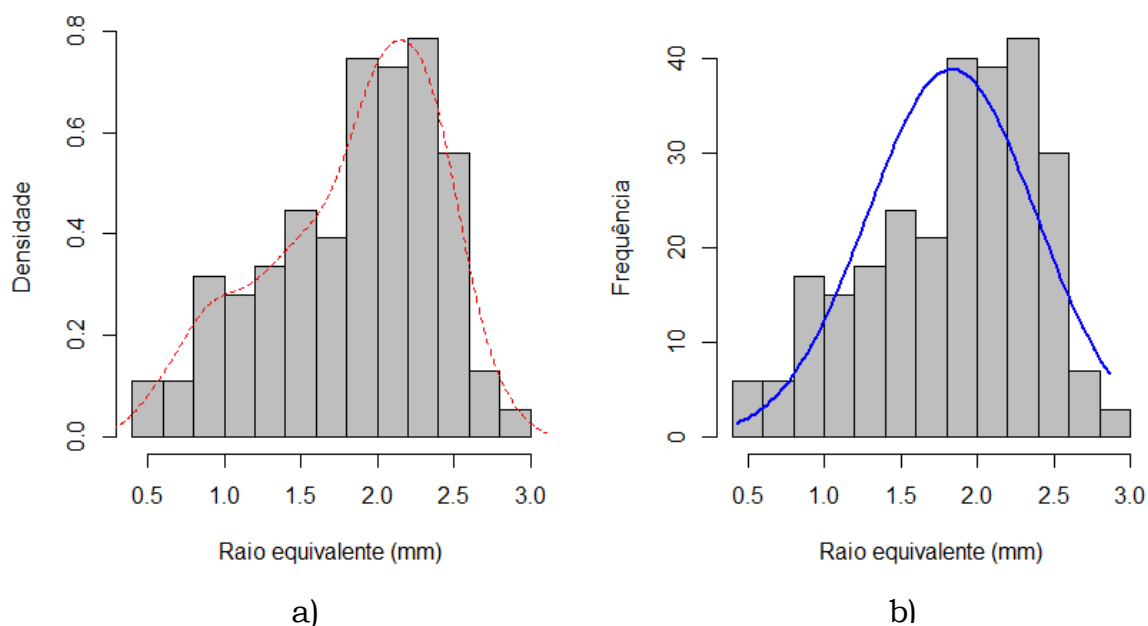


Figura 11 - Histograma dos dados experimentais (Frequência e Densidade estatística).

Fonte: Da autora.

O método proposto para determinação da distribuição de biopartículas se mostrou satisfatório na quantificação dos raios equivalentes dos grânulos. O protocolo proposto foi simples, de baixo custo e de ampla aplicação em estudos dessa natureza. A análise estatística descritiva mostrou que os dados seguem uma distribuição assimétrica negativa, com valor médio de raio equivalente de 1,835mm. O valor médio do raio equivalente será utilizado posteriormente na equação 9, representada pelo módulo de Thiele observado (ϕ), para a avaliação da resistência a transferência de massa interna nos biorreatores. A partir de análise de microscopia eletrônica de varredura, também é possível estimar o tamanho médio dos grânulos.

O tamanho do grânulo influencia no desempenho do reator UASB, se este for muito pequeno, pode ser facilmente lavado para fora do reator e isso resultará em instabilidade operacional. Por outro lado, se o grânulo for muito grande, reduzirá a transferência de massa dentro dele. O tamanho e a densidade dos grânulos dependem de vários fatores, como condições hidrodinâmicas, carga de DQO e as espécies microbianas envolvidas. Nas indústrias é preferível grânulos com tamanho médio, numa faixa de 1,0mm

a 2,0mm. A densidade de grânulos anaeróbios indica a sua compactação (Liu e TAY, 2004).

Zhu, Xu e Wu (2018) fizeram um estudo experimental e simulação matemática no efeito da distribuição do tamanho das partículas dos grânulos em um reator granular aeróbio em nitrificação parcial. Os autores constataram altas concentrações de bactérias oxidantes de nitrito (NOB) nos pequenos grânulos (<50 μ m). A presença de NOB nos pequenos grânulos reduziu o acúmulo de nitrito. O resultado pode ser utilizado para melhorar a operação de reatores que utilizam biomassa granular para nitrificação parcial, através da remoção desses pequenos grânulos.

5.2 RESULTADOS DO TESTE PRELIMINAR

Os testes preliminares foram realizados para avaliar o comportamento do sistema e possibilitou assim, escolher a melhor condição para retirada das amostras para análise em tempo equitativamente espaçado.

No primeiro teste, representado pela figura 12, tem-se que a concentração de sulfeto aumenta até o tempo de 24h, após esse período, a concentração sofre uma queda de 22mg.L⁻¹ para 16mg.L⁻¹, ao completar o tempo de 48h de ciclo.

O mesmo comportamento do teste 1 pode ser observado no teste 2, representado pela figura 13. Há uma queda de 53mg.L⁻¹ para 38mg.L⁻¹, valores correspondentes ao tempo de 24h e 48h, respectivamente.

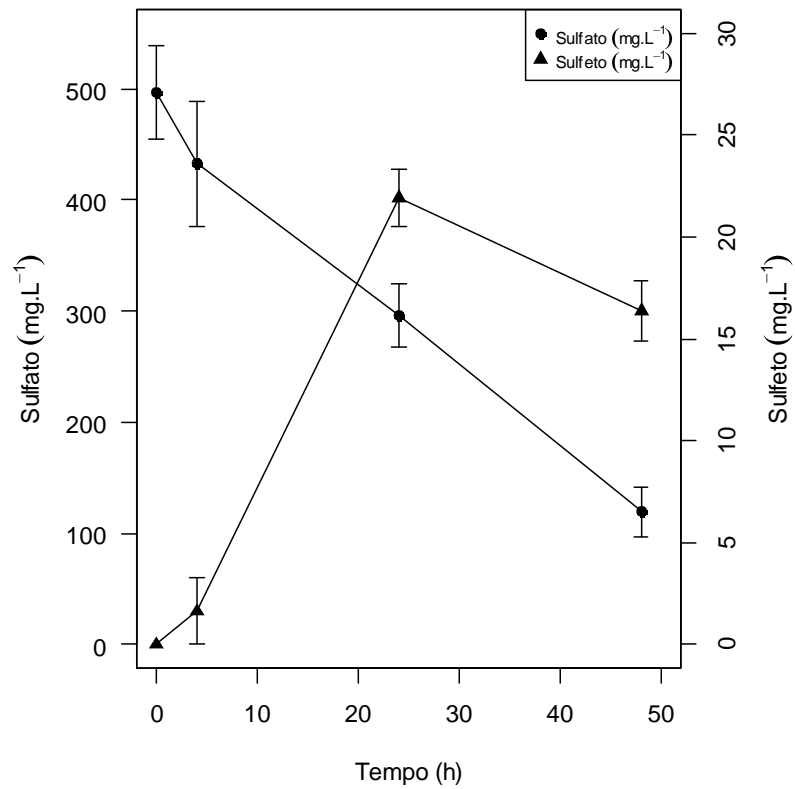


Figura 12 - Perfil temporal 1 da etapa preliminar com volume de 100ml.
Fonte: Da autora.

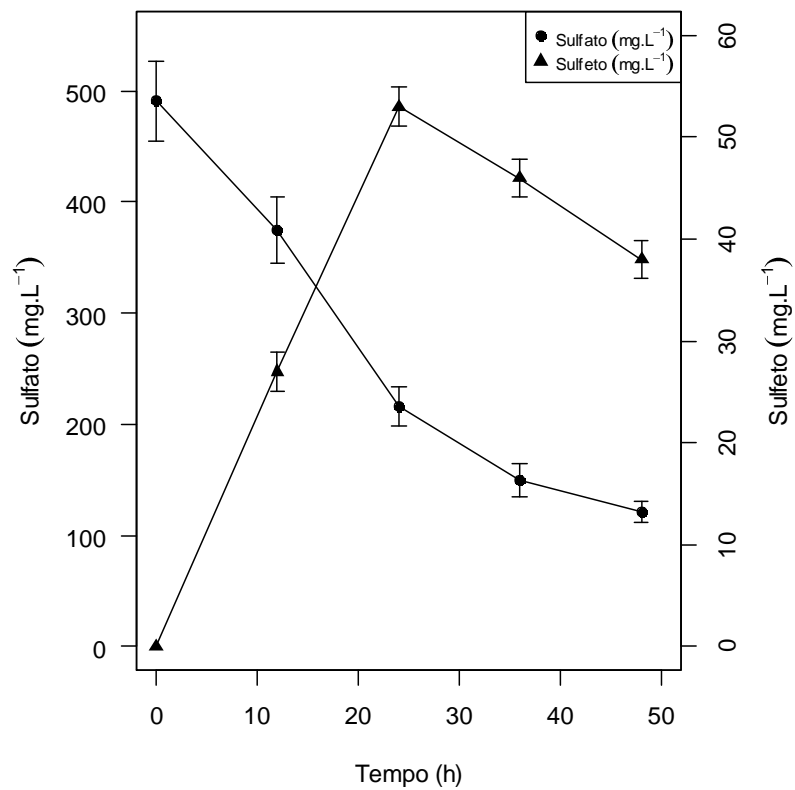


Figura 13 - Perfil temporal 2 da etapa preliminar com volume de 150ml.
Fonte: Da autora.

Devido ao fato do sulfeto ser extremamente volátil, é possível que ocorra perda no momento da análise, haja formação de enxofre elementar ou precipitação em sulfetos metálicos (RODRIGUEZ, 2012). Os motivos citados são possibilidades para a queda do sulfeto constatada nos experimentos.

A hipótese mais provável para a queda da concentração de sulfeto dos casos citados anteriormente, é devido à formação de sulfeto metálico. O sulfeto reage com os metais pesado como Fe, Zn, Cu, Ni e Pb levando a precipitação de sulfeto metálico insolúvel. A formação de sulfetos metálicos depende da concentração de íons metálicos, íons sulfeto e especialmente do pH (SÁNCHEZ-ANDREA et al., 2014). Essa hipótese pode ser validada pela foto representada pela figura 14, a qual ilustra a formação de precipitado na parte inferior do frasco duran.

O pH de entrada para todas as fases foi mantido em escala ácida. A operação de reatores em baixo pH apresenta outras vantagens além da possível recuperação dos metais, como o melhor desempenho das BRS comparado com as metanogênicas, por essa última ser mais sensível em pH baixo. O sulfeto produzido está majoritariamente na fase gasosa em pH ácido, isso faz com que o sulfeto seja mais facilmente separado, através de processos simples, como: precipitação subsequente de metais ou oxidação elementar de enxofre com oxigênio (SÁNCHEZ-ANDREA et al., 2014).

O pH de saída para ambos os testes 1 e 2 foi de $5 \pm 0,23$. Nessa medida, o pH está predominantemente na forma de H_2S , conforme pode ser constatado pela figura 15, na qual é representada as concentrações das espécies de enxofre em função do pH.

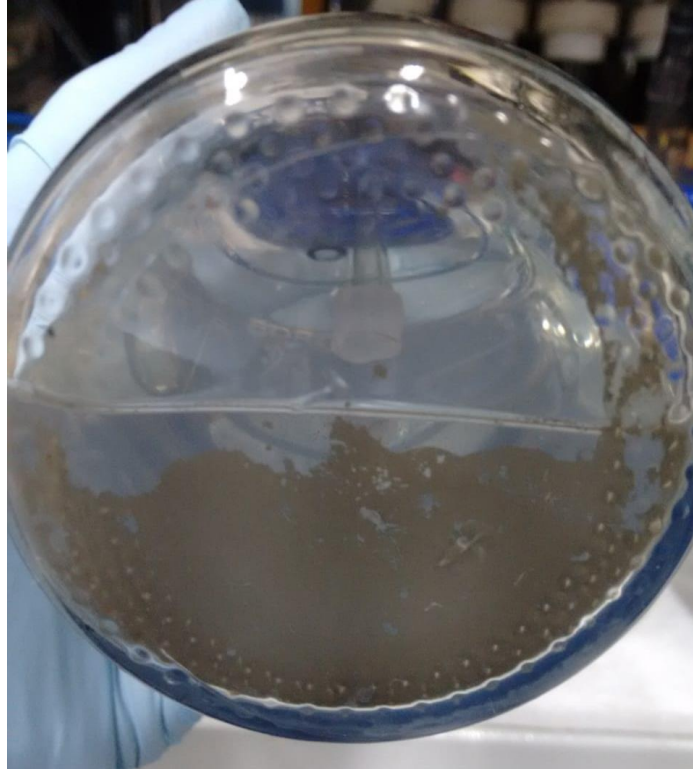


Figura 14 - Foto do frasco com presença de sulfeto metálico.
Fonte: Da autora.

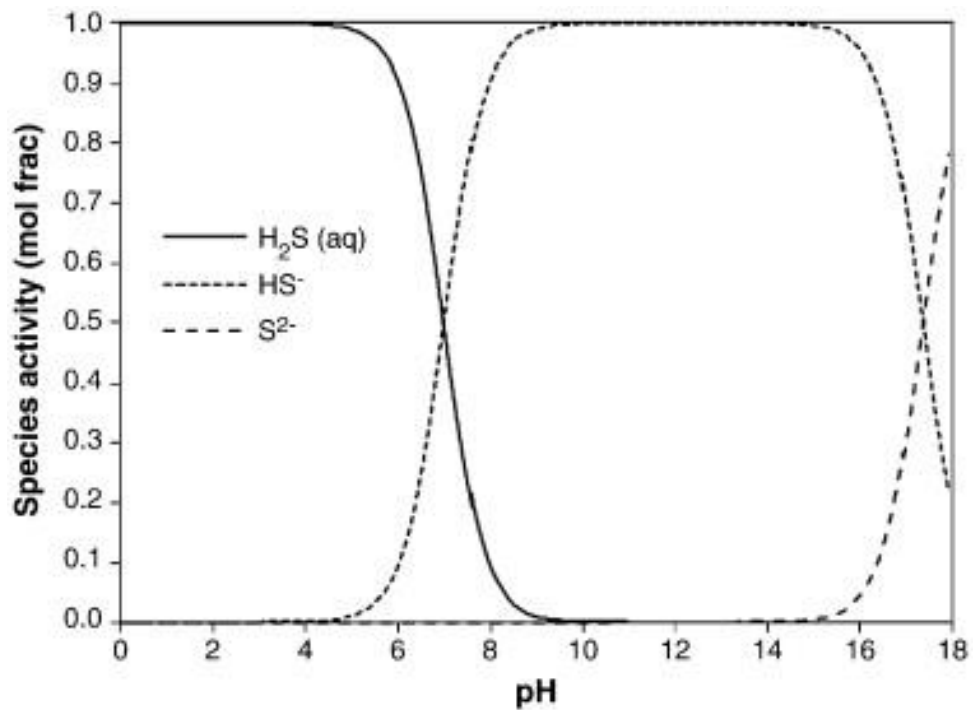


Figura 15 - Equilíbrio do H₂S, HS⁻ e S²⁻ em função do pH.
Fonte: (LEWIS, 2010).

Na figura 16 e 17, estão representados os testes preliminares 3 e 4, respectivamente. As amostras para o teste 3 foram retiradas no tempo 0, 8,

14 e 20 horas de ciclo, e para o teste 4 a cada 12h até o completar o tempo de 48h.

Através da figura 16, é possível analisar que não houve diminuição na concentração de sulfeto para o teste realizado no tempo de 20h. Nesse mesmo tempo para os testes 1 e 2 também não havia declínio da concentração de sulfeto. Por meio das análises dos resultados pode-se concluir que há a formação de sulfeto metálico somente após o tempo de 24h, para ambos os volumes de 100 e 150ml.

A figura 17, também retrata que não há redução na concentração de sulfeto, fato justificado pelo aumento do volume para 300ml. Nessa figura está representado o perfil gráfico de sulfato, sulfeto e DQO.

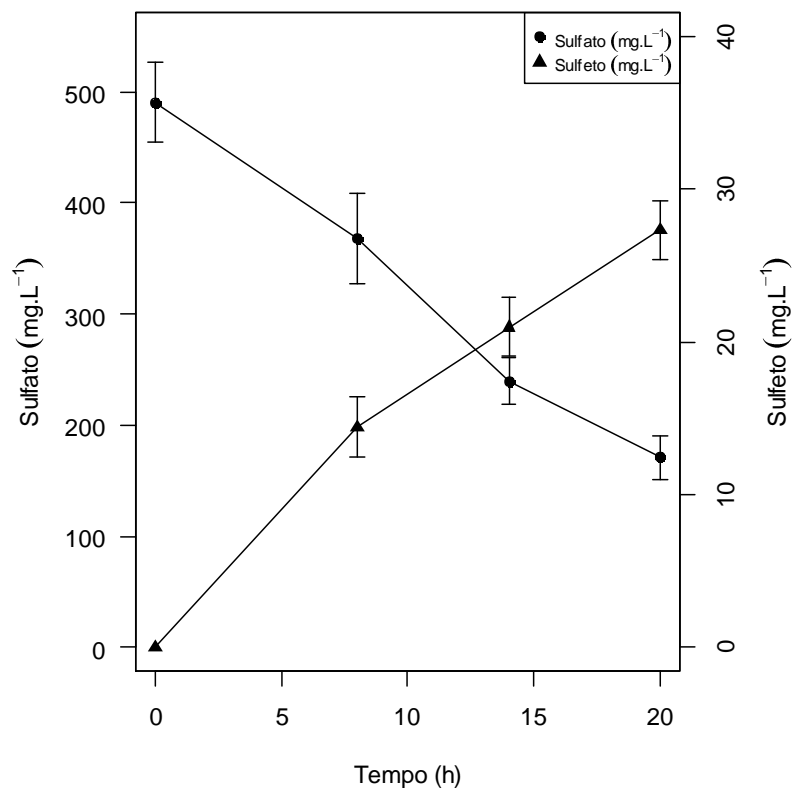


Figura 16 - Perfil temporal 3 da etapa preliminar com volume de 100ml.
Fonte: Da autora.

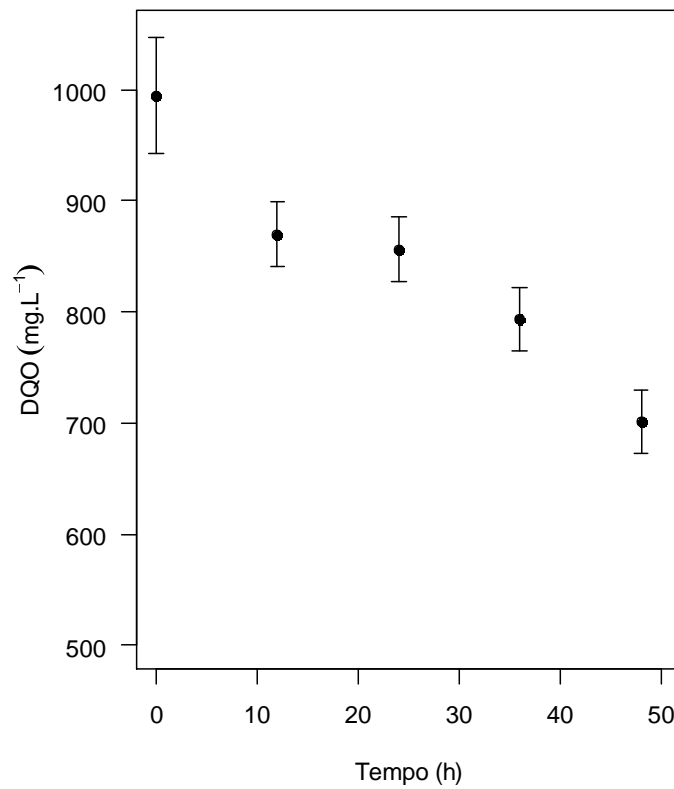
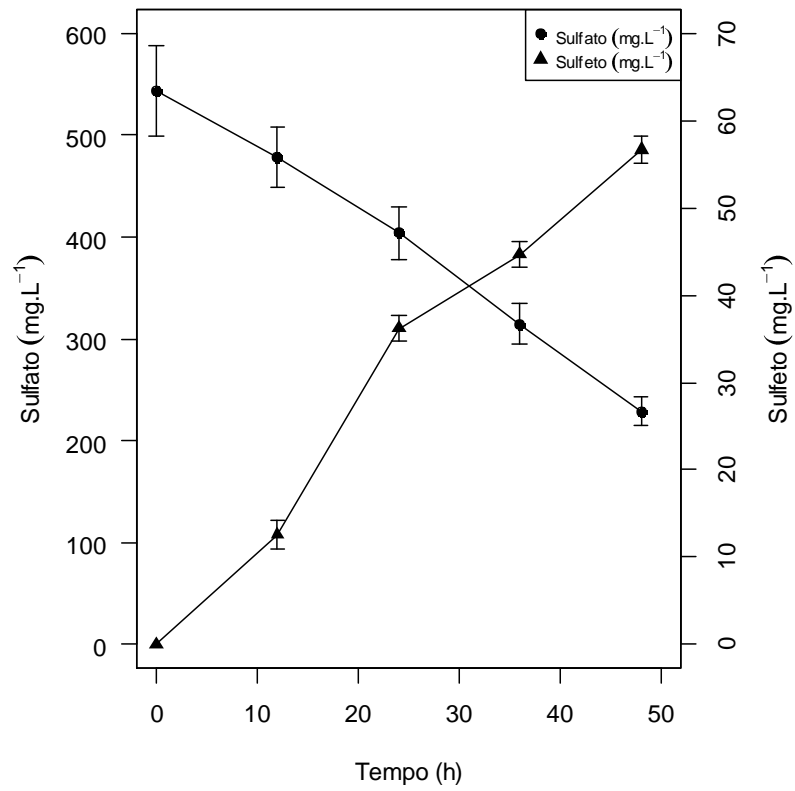


Figura 17 - Perfil temporal 4 da etapa preliminar com volume de 300ml.
Fonte: Da autora.

Na tabela 6 são apresentadas as médias de sulfato afluyente e residual ao final do ciclo e as respectivas eficiências de remoção para cada fase.

Através da comparação entre as fases, pode-se aferir pelos resultados que a eficiência para os testes 1 e 2 apresentaram a mesma remoção de sulfato. O aumento do volume em 50ml não resultou em interferência nos dados.

Para o teste 1, experimento com tempo de ciclo de 48h, a eficiência de remoção foi de 75,97%. Para o teste 4, a eficiência de remoção foi de 57,87%. O volume para o teste 1 foi de 100ml e para o teste 4 foi igual a 300ml. A partir dos dados de volume e concentração foi possível calcular a carga removida para cada condição, os valores obtidos correspondem a 37,5mg e 85,5mg, respectivamente. Apesar do teste 4 apresentar a menor eficiência de remoção dentre as fases preliminares testadas, o valor de carga removida foi maior para essa condição, portanto, dentre os testes realizados, foi adotado as condições do teste 4 para realização das 6 fases subsequentes. Além disso, a condição foi escolhida por critério de praticidade, por permitir realizar as análises em um tempo hábil e, devido ao fato do seu volume ser maior, foi possível realizar as análises com interferência mínima no volume do sistema.

Tabela 6 - Média de SO_4^{2-A} , SO_4^{2-R} e das eficiências de remoção para sulfato relacionado a cada fase estudada no teste preliminar.

Teste	Volume total do sistema (ml)	Tempo de ciclo (h)	SO_4^{2-A} (mg.L ⁻¹)	SO_4^{2-R} (mg.L ⁻¹)	Eficiência (%)
1	100	48	497 ± 42	119 ± 22	75,97
2	150	48	491 ± 36	121 ± 9	75,36
3	100	20	491 ± 36	171 ± 20	65,14
4	300	48	544 ± 44	229 ± 14	57,87

Fonte: Da autora.

5.3 PERFIS TEMPORAIS PARA AJUSTE CINÉTICO

Os valores de concentração encontrados nas análises para sulfato, sulfeto, DQO e ferro estão explanados para cada perfil estudado em função do tempo. Os resultados foram apresentados na forma de média aritmética dos cinco reatores.

Perfil da FASE I

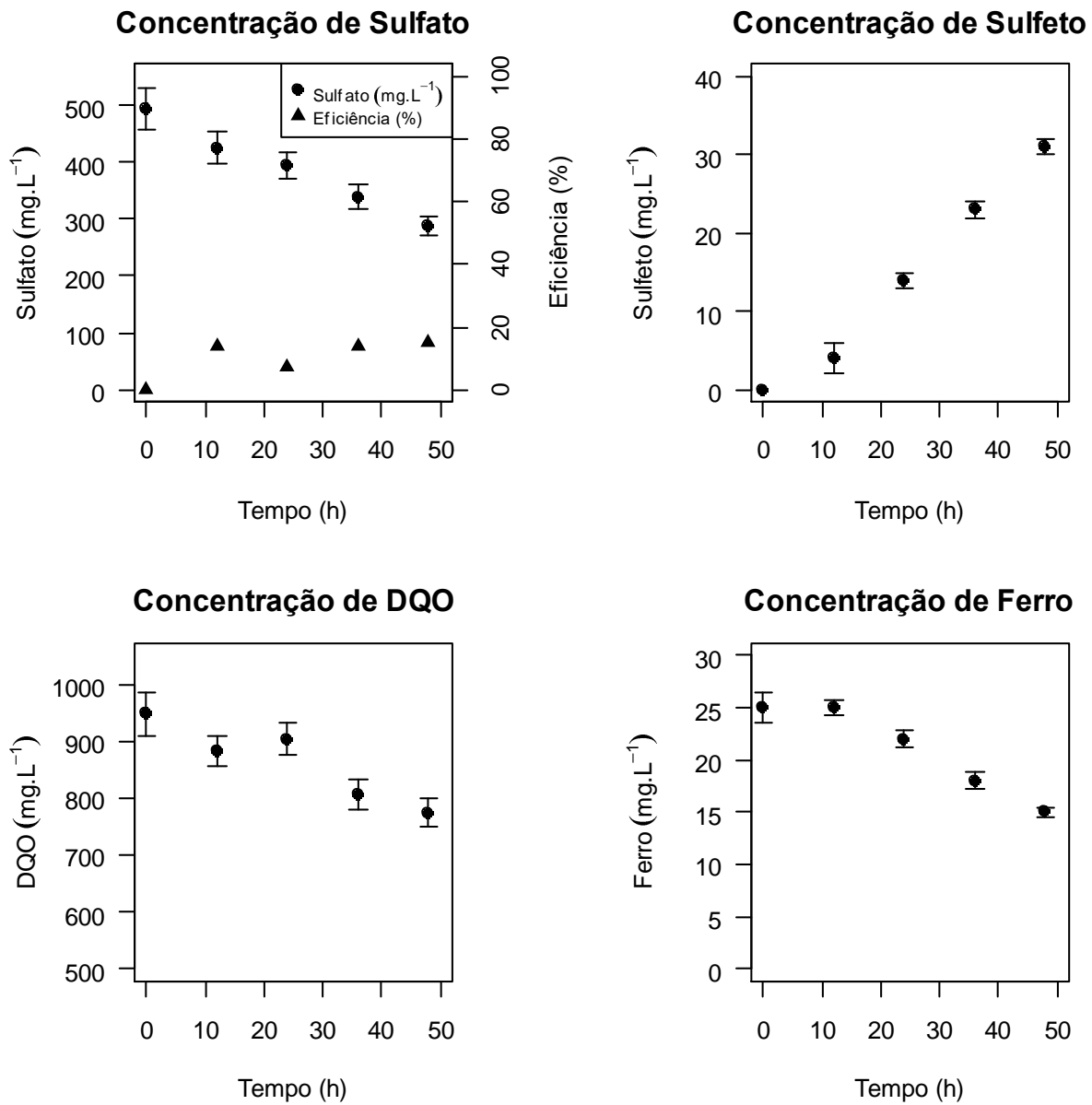


Figura 18 - Perfil I de concentração de sulfato, sulfeto, DQO e ferro em função do tempo.

Fonte: Da autora.

Perfil da FASE II

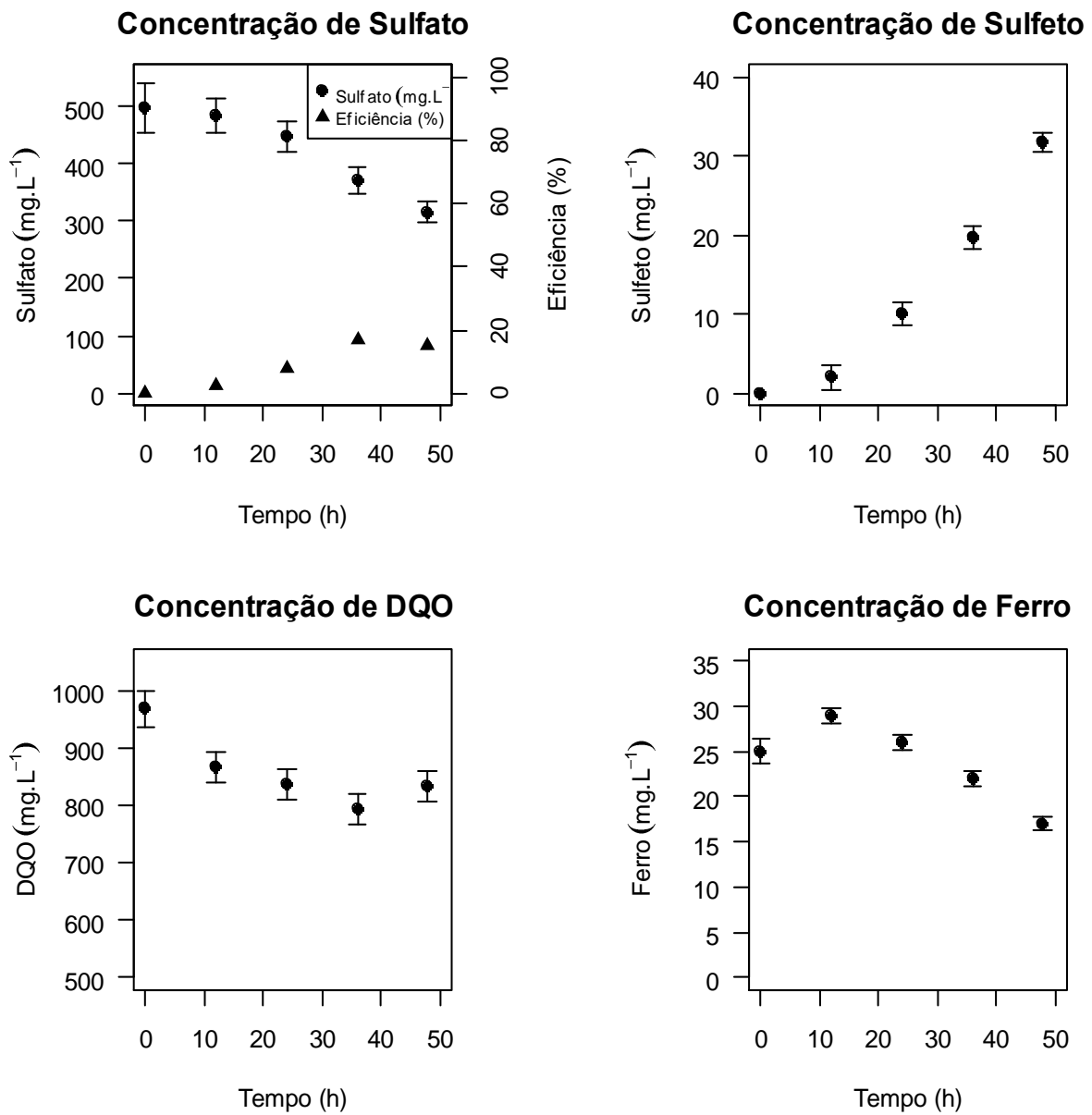


Figura 19 - Perfil II de concentração de sulfato, sulfeto, DQO e ferro em função do tempo.

Fonte: Da autora.

Perfil da FASE III

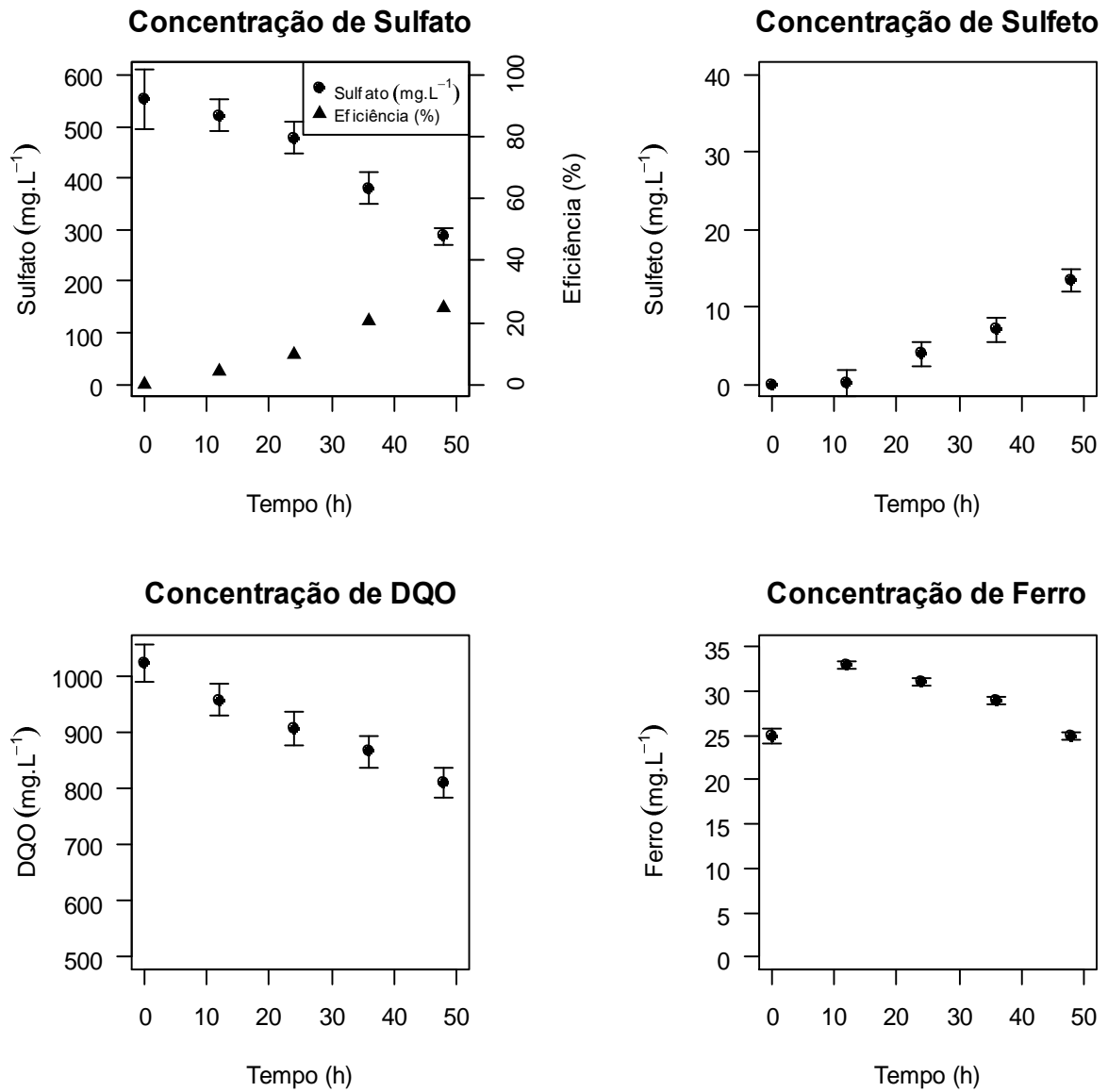


Figura 20 - Perfil III de concentração de sulfato, sulfeto, DQO e ferro em função do tempo.

Fonte: Da autora.

Perfil da FASE IV

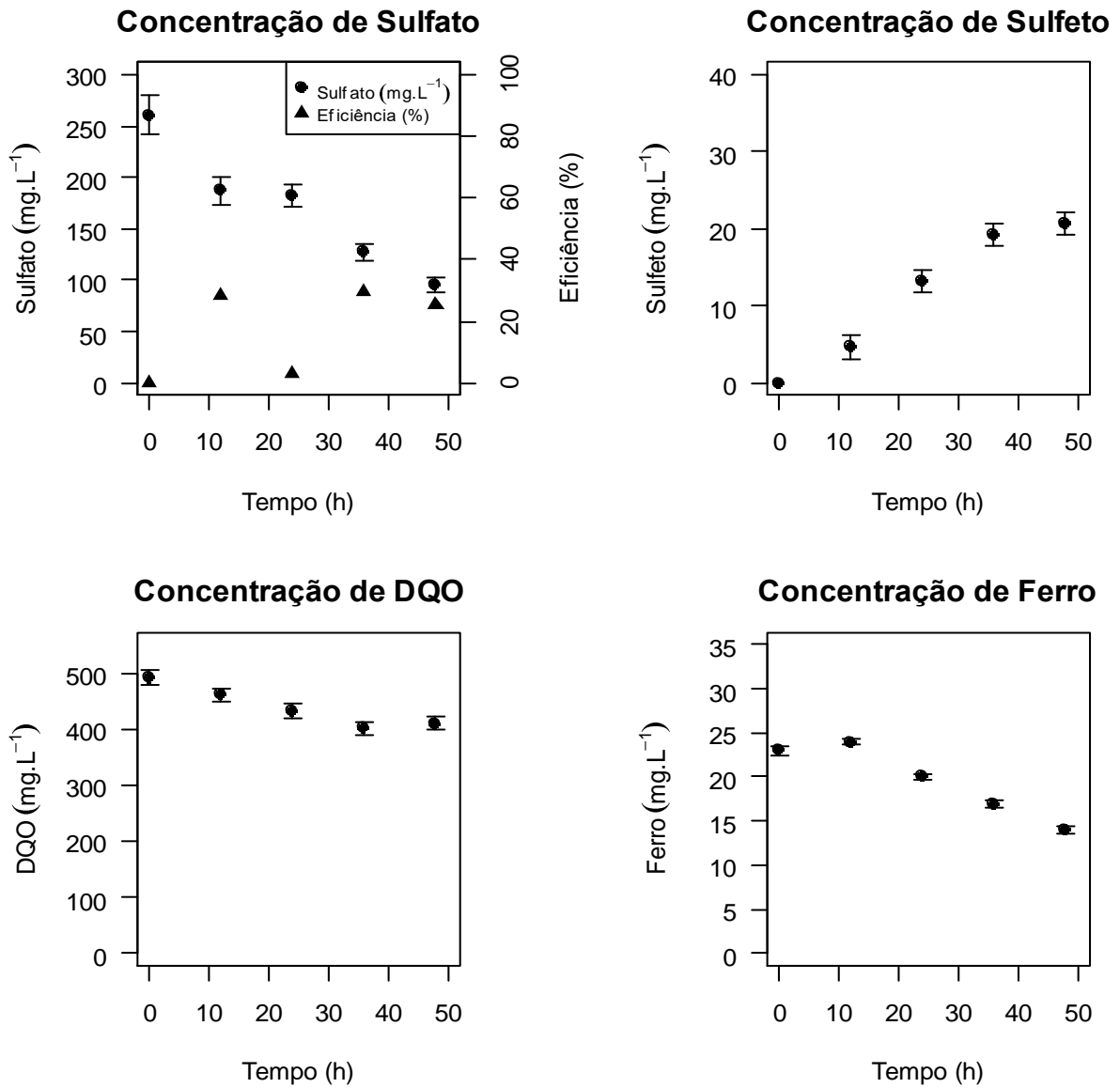


Figura 21 - Perfil IV de concentração de sulfato, sulfeto, DQO e ferro em função do tempo.

Fonte: Da autora.

Perfil da FASE V

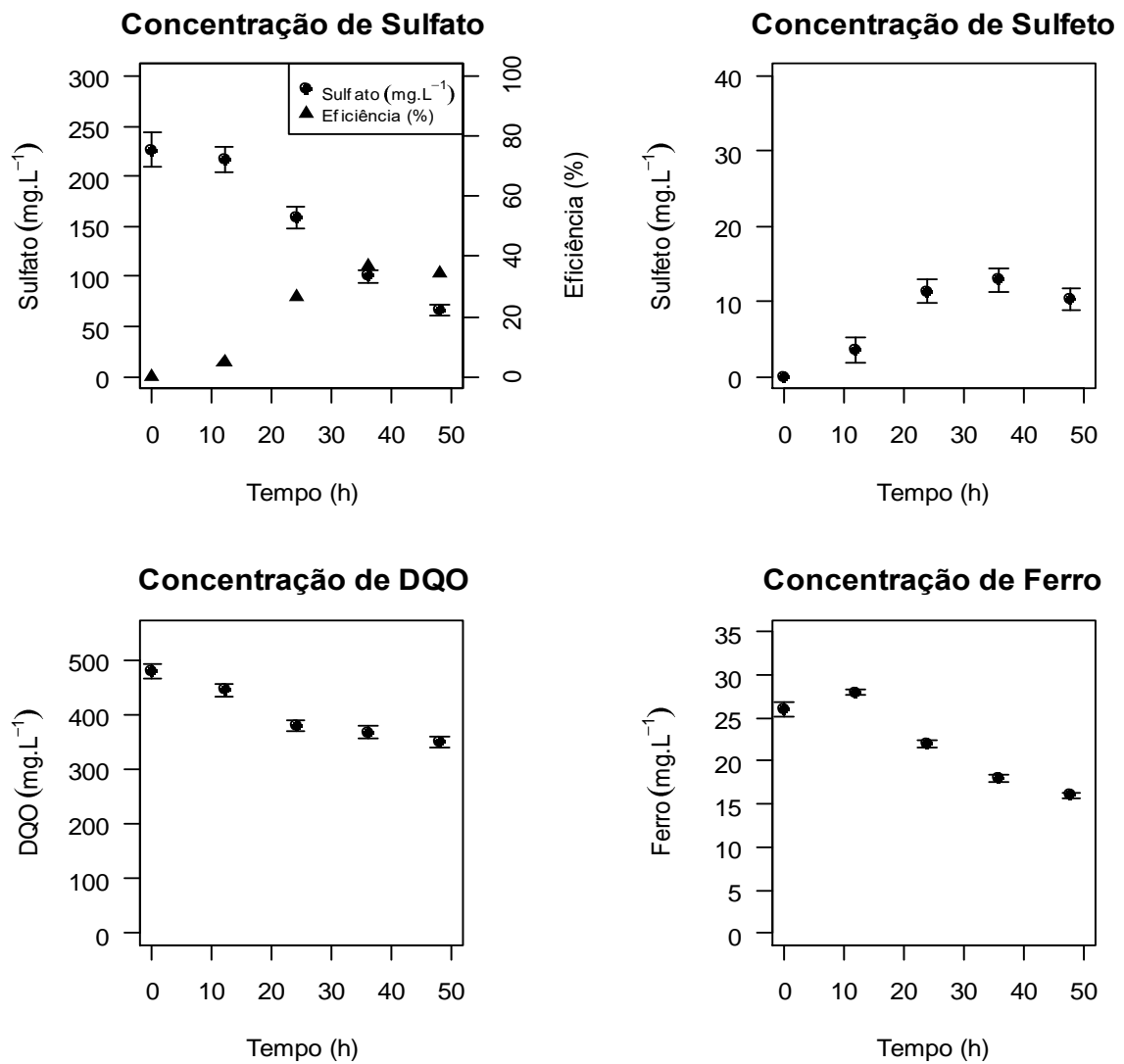


Figura 22 - Perfil V de concentração de sulfato, sulfeto, DQO e ferro em função do tempo.

Fonte: Da autora.

Perfil da FASE VI

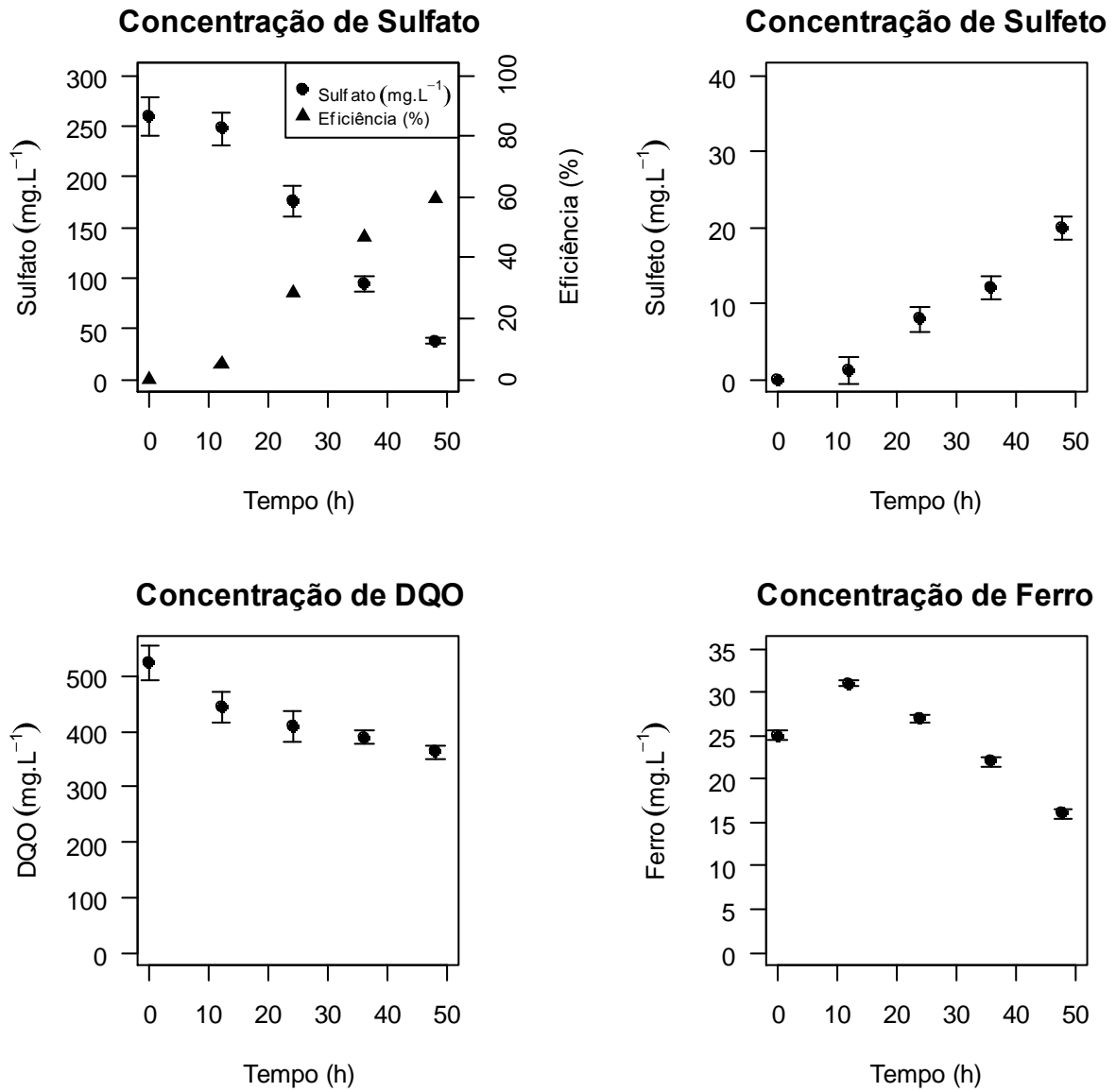


Figura 23 - Perfil VI de concentração de sulfato, sulfeto, DQO e ferro em função do tempo.

Fonte: Da autora.

Perfil da FASE VII

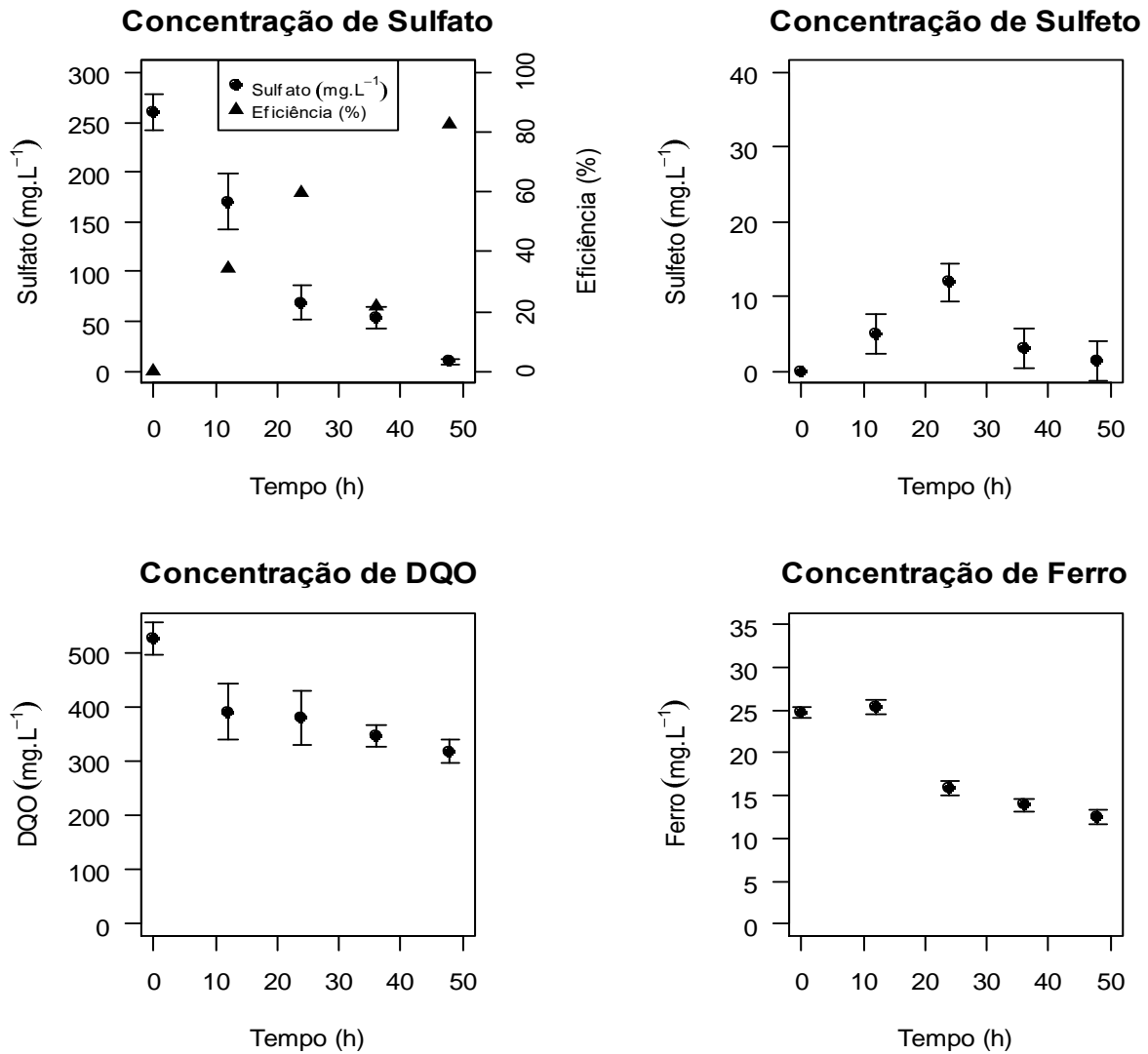


Figura 24 - Perfil VII de concentração de sulfato, sulfeto, DQO e ferro em função do tempo.

Fonte: Da autora.

5.3.1 Comparação entre as fases e discussão dos resultados

Neste tópico estão descritas as eficiências de remoção de cada componente do estudo e são representados em gráficos de barra, de modo a proporcionar um efeito comparativo entre os mesmos. Além disso, é discutida a forma como cada elemento se comportou nas diferentes condições.

5.3.1.1 DQO

Na figura 25 é apresentada a eficiência de remoção de matéria orgânica para cada fase estudada. Nela está contido as concentrações de sulfato de 500 e 250mg.L⁻¹ em diferentes velocidades.

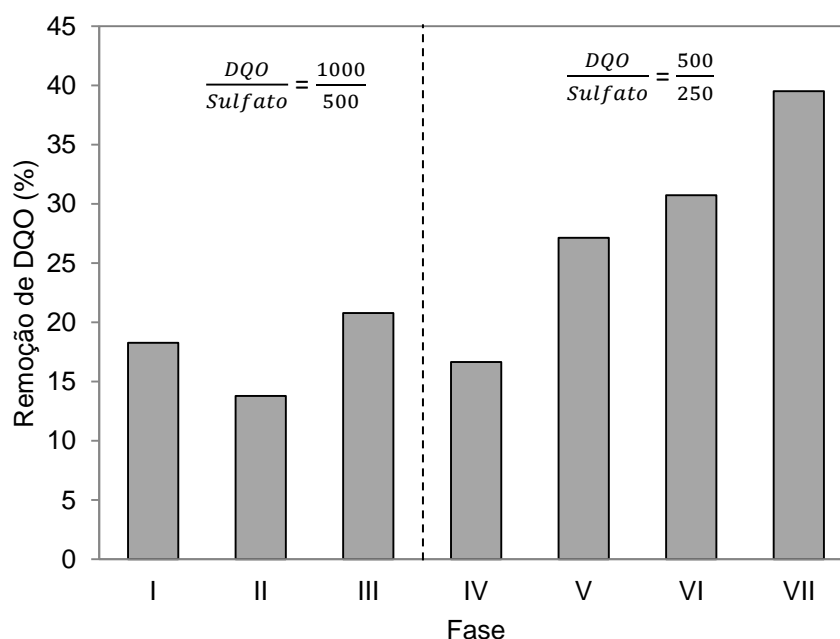


Figura 25 - Remoção de DQO para as fases I,II,III, IV,V,VI e VII.

Fonte: Da autora.

Uma das hipóteses para a baixa eficiência na concentração de DQO pode ser explicada devido à quantidade de doadores de elétrons serem consideravelmente maior do que o necessário para as BRS (LENS et al., 1998). A fase VII evidencia esse princípio, no qual houve 96,37% de remoção de sulfato e 39,52% de remoção de DQO. Outra possibilidade é a prevalência

das BRS incompletas, as quais degradam a matéria orgânica até acetato, que também é contabilizado como DQO.

Costa (2017) tratou DAM em reator ASBR perante aumento crescente da concentração de metais Fe^{2+} , Zn^{2+} e Cu^{2+} . No trabalho foi utilizada a mesma concentração para DQO e sulfato (relação de 1). O autor sugeriu que a relação DQO/sulfato poderia ser diminuída para uma razão de 0,8, de modo a obter um efluente com baixos valores de DQO, podendo ser descartado em corpos receptores adequados. Além de que, se considerar o tratamento em escala industrial, é fundamental que a fonte de carbono possua o menor gasto possível.

Pereira (2017) e Acerbi (2015) encontraram valores de remoção de DQO próximos aos encontrados no presente trabalho. Ambos os autores utilizaram etanol como fonte de carbono e a relação DQO/sulfato igual a 2. Pereira (2017) obteve 29% de remoção de matéria orgânica, para cargas de sulfato de 500 e 1000mg.L^{-1} em pH inicial igual a 3,3. Acerbi (2015) alcançou remoções de DQO de 30% para o pH de 3 e de 37% para o pH de 3,5. Os autores justificaram os baixos percentuais de remoção de DQO ao acúmulo de ácidos no meio, principalmente ácido acético, resultante da oxidação incompleta de sulfato. Vale enfatizar que o lodo utilizado nessa pesquisa foi proveniente do reator de Pereira (2017).

Considerando que a sulfetogênese é o fenômeno de maior importância no meio, uma parte da matéria orgânica que sai como DQO é composta por ácidos orgânicos voláteis. O acúmulo é resultado de um maior favorecimento das BRS incompletas, visto que na via completa para redução de sulfato, a matéria orgânica é encontrada na forma mais oxidada possível, e, portanto, a DQO no final de ciclo deveria ser menor se esta fosse a fase predominante (TOLEDO FILHO, 2017).

Através da figura 25 é possível perceber que o reator apresentou aumento na eficiência para remoção de matéria orgânica, à medida que se diminuíram as concentrações de DQO e sulfato afluente.

5.3.1.2 Ferro

Na figura 26 é apresentada a eficiência de remoção de ferro para cada fase estudada. Nela está contido as concentrações de sulfato de 500 e 250mg.L⁻¹ em diferentes velocidades.

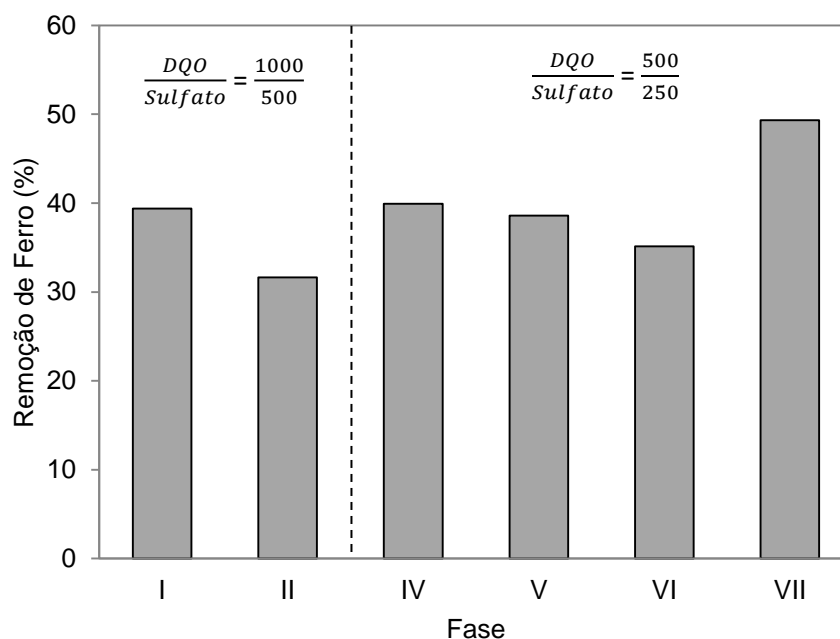


Figura 26 - Remoção de ferro para as fases I,II,III, IV,V,VI e VII.
Fonte: Da autora.

Em primeiro momento pensou-se em realizar os experimento com a concentração de 100mg.L⁻¹ de ferro, valores utilizados por Tsukamoto e Miller (2004), Pereira (2017) e Toledo Filho (2018). Esse teste com concentração de 100mg.L⁻¹ foi realizado sob as mesmas condições do teste quatro, porém essa concentração causou completa inibição dos reatores. Por essa razão, optou-se por diminuir a concentração de ferro para 25mg.L⁻¹, e foi essa a concentração estipulada para todo o trabalho. Para recuperação do reator foram necessários quinze dias. Tem sido amplamente relatado os efeitos inibitórios em reatores para remoção de sulfato que utilizam ferro com concentração maiores que 60mg.L⁻¹ (DENG; WEIDHAAS; LIN, 2016; MARTINS, 2009). No entanto, Garcia et al (2001) verificaram, para culturas de BRS, boa tolerância para a concentração de 30mg.l⁻¹ de Fe²⁺.

A remoção do metal ferro apresentou eficiência de remoção em torno de 40% na concentração de 25mg.L⁻¹. Este fato pode ser justificado pela baixa quantidade de biomassa presente no biorreator.

A eficiência de remoção de sulfato para o teste 4, condição sem adição de ferro, foi de 57,87%, enquanto a eficiência para a fase I, realizada sob as mesmas condições que o teste 4 mas com adição de ferro, apresentou eficiência de 41,74%. Segundo Mudhoo e Kumar (2013) os metais pesados podem afetar as reações bioquímicas que ocorrem durante os processos de digestão anaeróbica da matéria orgânica de forma a gerar inibição ou até mesmo se apresentar tóxicos. Por outro lado, podem exercer papéis importantes de efeitos estimulantes em reações bioquímicas, sendo essencial para o crescimento e desenvolvimento de microrganismos. O que irá discernir qual fator prevalecerá, será a concentração. Outra relação que pode ditar como será a interferência é a concentração de biomassa presente no reator (SHEORAN; SHEORAN; CHOUDHARY, 2010).

Pereira (2017) dosou o ferro (Fe²⁺) gradativamente para evitar efeitos inibitórios à biomassa. No entanto, ao adicionar 50mg.L⁻¹ de Fe²⁺ na composição da DAM, o autor constatou que houve grande impacto e modificação no comportamento do reator, sobretudo em relação à remoção de DQO e sulfato. As remoções de DQO e sulfato foram reduzidos a um terço comparado com a fase sem adição do ferro.

Apesar de apresentar um desempenho atípico, o comportamento do metal ferro se manteve o mesmo para todas as fases. Por meio dos perfis temporais é possível avaliar um aumento da concentração do ferro no segundo ponto, tempo de 12h de ciclo. Esse comportamento se intensificou ao aumentar a velocidade superficial. O aumento da concentração nesse ponto deve-se ao acúmulo do ferro dentro do reator, ou seja, a concentração constatada engloba a concentração da nova fase mais a quantidade retida do metal no sistema, processo conhecido como adsorção. Quando a velocidade foi aumentada, por gerar maior movimentação no fluxo, fez com que houvesse o desprendimento do ferro, o que justifica essa concentração ser maior para maiores velocidades (perfil III e VI).

Os principais mecanismos de remoção de metais em biorreatores correspondem à precipitação na forma de sulfetos, hidróxidos e carbonatos. Entretanto, mecanismos de sorção tais como adsorção, precipitação superficial e polimerização em suporte inorgânico, matéria orgânica sólida, bactérias e precipitados de metais também ocorrem (SHEORAN; SHEORAN; CHOUDHARY, 2010).

Segundo Sheoran A.S., Sheoran V. e Choudhary (2010) a adsorção é um fenômeno que ocorre com frequência em reatores contendo lodo. É um processo no qual há o acúmulo de íons metálicos nessa superfície. Esse fenômeno também depende do pH. Portanto, em pH levemente ácido a neutro em biorreatores redutores de sulfato, a adsorção de metais dissolvidos no material do substrato é um importante mecanismo de remoção de metal. Porém, pode haver a saturação desses locais, fazendo com que haja aumento em algum ponto da análise, como foi constatado pelo presente trabalho. Mudhoo e Kumar (2013), explica que devido à complexidade do sistema anaeróbio, os metais podem estar envolvidos em muitos processos físico-químicos, entre eles a sorção para a fração sólida, seja na biomassa ou partículas inertes da matéria e que além da forma físico-química, diferenças no substrato, no gênero de bactérias e nos fatores ambientais também explicam a grande variação tanto nas dosagens relatadas de metais pesados quanto na sua relativa toxicidade.

Hurtado, Viedma e Cotoras (2018) estudaram a configuração de um bioprocessos para remover sulfato e metal de DAM. No trabalho, os autores fizeram uma combinação de biossorção e um novo processo de remoção de sulfato. O tratamento para a eliminação de metais por biossorção com uma estirpe de *Bacillus* permitiu reduzir as concentrações elevadas de metal que tinham um efeito tóxico nas BRS. A remoção de sulfato foi desenvolvida utilizando um consórcio halotolerante (capazes de crescer em altas concentrações de sal), utilizando substratos orgânicos de baixo custo, como a espirulina, a celulose e o amido industrial. Sheoran A. S., Sheoran V. e Choudhary (2010) relatam que a biossorção é outro mecanismo importante em biorreatores para a remoção de íons metálicos, nos quais a adsorção e a absorção ocorrem simultaneamente. Alguns fatores podem influenciar a

bioadsorção, dentre eles, tem-se: disponibilidade de nutrientes durante o crescimento, idade e estado fisiológico das células bacterianas, condições ambientais (pH, força iônica e temperatura), presença de íons competitivos e concentração da biomassa.

Yue (2015) estudaram a capacidade de adsorção de metais pesados em substâncias poliméricas extracelulares. Substâncias poliméricas extracelulares são produzidas pelos próprios microrganismos e são compostos principalmente por polissacarídeos, proteínas, ácidos nucleicos e lipídios. Os metais testados foram o Zn^{2+} , Cd^{2+} e Cu^{2+} . O Zn^{2+} apresentou uma maior densidade de adsorção, e devido a este fato, diminuiu os efeitos tóxicos do Cd^{2+} e do Cu^{2+} nas BRS.

A partir dos perfis temporais foi possível observar que houve maior eficiência de remoção de ferro para as velocidades mais baixas. Esse comportamento acontece para as duas concentrações de sulfato estipuladas. Foi possível avaliar que há uma diferença ínfima entre os resultados e este possui um comportamento sequencial. Name e Sheridan (2014) também reportaram que a remoção na concentração de ferro foi maior em baixa vazão e diminuiu à medida que a taxa de fluxo foi aumentada. Os autores utilizaram as vazões de 4, 8, 12 e $16\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ e um período de ciclo de 12h. No trabalho foi avaliado o tratamento de DAM em reator de fluxo contínuo. Visto que a velocidade influencia nas remoções de metais, esse resultado apresenta grande relevância, pois pode ser incorporado em projetos de reatores em escala piloto, em que é necessário tratar efluentes com altas concentrações de metais.

Dvorak et al., (1992) reportou acúmulo de ferro em taxas de 5 – 50 $\text{g}/\text{m}^3\cdot\text{dia}$ quando operado em tempo de residência de 5 dias e acúmulo de zinco e manganês em taxas de 14 – 20 e 2 – 3 $\text{g}/\text{m}^3\cdot\text{dia}$, respectivamente, quando operado em tempo de residência de 9 dias. O trabalho foi realizado com reator batelada em escala piloto para tratamento de DAM.

Tempos de residência curtos, ou alta vazão, podem não permitir tempo suficiente para que a atividade bacteriana precipite metais e neutralize a acidez, além da possibilidade de desalojar sólidos. Além disso, podem superar a capacidade de um reator de gerar alcalinidade. Isto poderia

resultar na acidificação à medida que a atividade bacteriana é inibida. Por outro lado, tempos de permanência excessivamente longos podem sujeitar um reator a cargas de metais e acidez tão pequenas que grande parte do H₂S e alcalinidade produzida sairão do reator sem uso (DVORAK et al., 1992).

5.3.1.3 Sulfato

Na figura 27 é apresentada a eficiência de remoção de sulfato para cada fase estudada. Nela está contido as concentrações de sulfato de 500 e 250mg.L⁻¹ em diferentes velocidades.

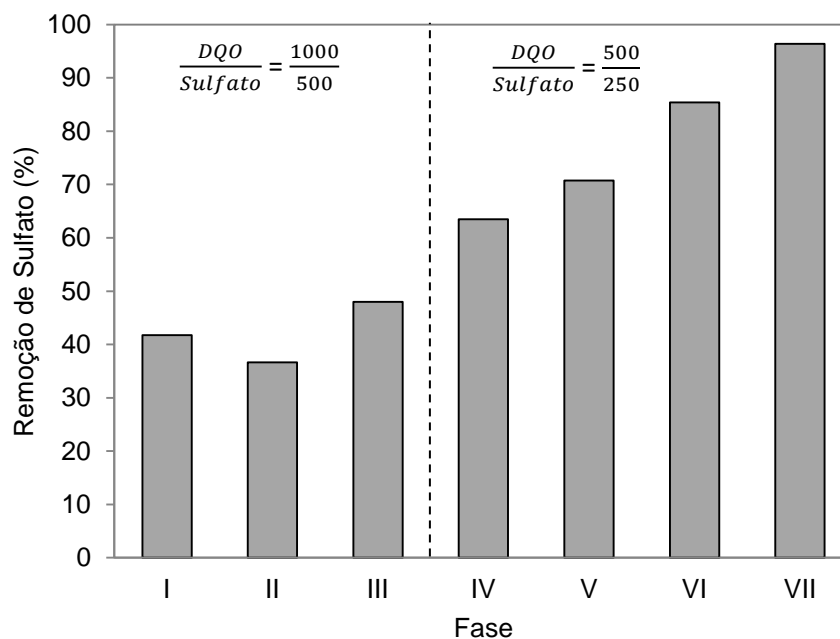


Figura 27 - Remoção de sulfato as fases I,II,III, IV,V,VI e VII.

Fonte: Da autora.

Comparando-se as remoções de sulfato para as sete fases de operação, observa-se a diferença numérica percentual entre os valores e o seu comportamento crescente conforme a velocidade é aumentada. Desse modo é possível concluir que o aumento da velocidade resultou em maior contato do meio contendo DAM sintética com os microrganismos e conseqüentemente no aumento da eficiência de remoção de sulfato.

Através do gráfico de eficiência de remoção de sulfato para as fases II, III, V e VI correspondentes às figuras 19, 20, 22 e 23, respectivamente, é possível observar um aumento crescente na eficiência de remoção deste elemento conforme ocorre a passagem do tempo do ciclo. Entretanto este comportamento não é observado para as fases I e IV, figuras 18 e 21, de forma respectiva, condições que usam a velocidade de $0,07\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$. Constata-se para essas fases uma queda da eficiência no terceiro ponto, ou seja, no tempo de 24h. Uma hipótese provável para a queda na eficiência pode ter ocorrido devido ao acúmulo de ácido acético, o qual causa inibição nas BRS. Foi constatado por Reis et al. (1990) a inibição por ácido acético no desenvolvimento das BRS. As BRS são geralmente mais suscetíveis a concentrações elevadas de ácido graxo volátil (AGV) do que as metanogênicas (KOSCHORRECK, 2008). Segundo Ghose and Wikén (1955 apud SÁNCHEZ-ANDREA et al., 2013) os ácidos orgânicos são inibitórios em baixo pH pois podem passar a membrana celular na forma não dissociada e ácida, diminuindo dessa forma o pH intracelular.

Na fase VII, representado na figura 24, também houve queda na eficiência, porém para esta fase a queda ocorreu no quarto ponto, tempo de 36h de ciclo, quando o sulfato residual estava em $54\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. A fase VII mostra através da diminuição do seu volume do frasco duran, que é possível obter remoção próxima a 100% do sulfato afluente.

Através da figura 27 é possível perceber que o reator apresentou aumento na eficiência para remoção de sulfato, à medida que se diminuíram as concentrações de DQO e sulfato afluente. Pereira (2017) alcançou aumento da eficiência de 51,6 para 70,3% em reator tratando DAM e com etanol atuando como fonte de carbono, através da diminuição da concentração de sulfato de 1000 para $500\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

5.3.1.4 Sulfeto

Na figura 28 é apresentada a concentração final de sulfeto para cada fase estudada, em diferentes velocidades.

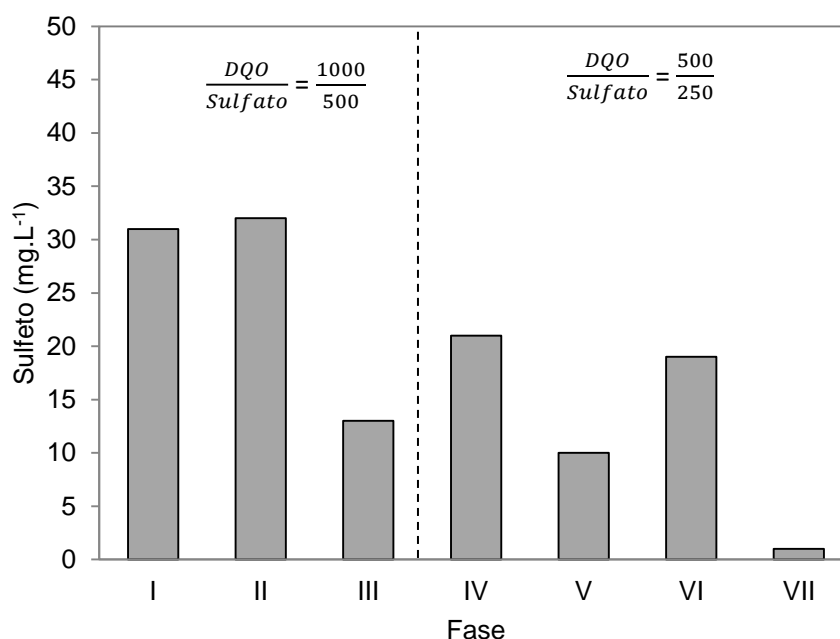


Figura 28 - Produção de sulfeto para as fases I,II,III, IV,V,VI e VII.
Fonte: Da autora.

A pequena quantidade de sulfeto na fase VII é decorrente de seu decaimento durante o tempo do ciclo de 24h, como demonstrado pela figura 24. O sulfeto apresentou divergência em seus resultados finais, o motivo para este episódio foi apontado por Rodriguez (2012), como já discutido anteriormente no item 5.2. O sulfeto se encontra predominantemente na forma de H₂S para todas as fases.

Kaksonen, Franzmann e Puhakka (2004) estudaram os efeitos do TDH e da toxicidade do sulfeto para tratamento de águas residuais ácidas contendo metais. Os doadores de elétrons utilizados foram etanol e acetato. Os autores concluíram através da pesquisa que a oxidação do etanol é mais afetada pela toxicidade do sulfeto do que a oxidação do acetato e o tempo de TDH não surtiu efeito na redução do sulfato quando utilizado etanol como fonte de carbono. O sulfeto de hidrogênio em baixo pH combinado com o ferro funciona como um inibidor para a redução do sulfato (KOSCHORRECK, 2008).

Sarti et al. (2010) constatou que a recirculação em sistemas batelada aumenta o risco de toxicidade por sulfeto, particularmente em altas velocidades, superiores a 22m.h⁻¹. Através da constatação apresentada, é

possível aferir que o presente trabalho não apresentou toxicidade por sulfeto, pois a vazão variou entre 0,04 e 1,07m.h⁻¹, valores muito inferiores ao apresentado pelo autor.

Choi e Rim (1991) avaliaram a competição pelo substrato entre as BRS e produtoras de metano na relação DQO/sulfato entre 1,7 e 2,7. À medida que essa relação aumentava, as produtoras de metano predominavam, e as redutoras de sulfato prevaleciam à medida que a proporção diminuía. Além disso, estudaram os efeitos inibitórios do sulfeto produzido a partir da redução do sulfato para ambos os casos. As concentrações inibitórias foram de 160 a 200mg.L⁻¹ de sulfeto para as BRS e de 120 a 140mg.L⁻¹ para as produtoras de metano. Os valores encontrados pelo presente trabalho não ultrapassaram 35mg.L⁻¹ de sulfeto, por isso entende-se que não houve toxicidade por sulfeto.

5.3.1.5 pH e Alcalinidade

Na figura 29 é apresentada os valores de pH de entrada e saída para as diferentes fases estudadas.

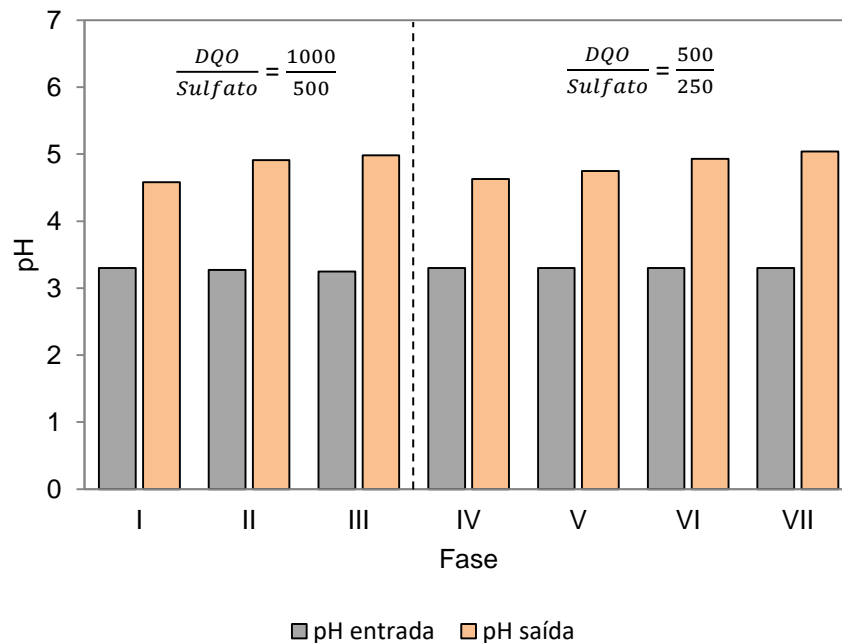


Figura 29 - pH afluente e efluente para as fases I,II,III, IV,V,VI e VII.
Fonte: Da autora.

Os valores de pH afluente variaram entre 3,2 e 3,3 e para o efluente ficou em torno de 5.

Na figura 30 são apresentados os valores de alcalinidade para as diferentes fases estudadas. Observa-se através das figuras 29 e 30 que pequenas variações no pH causam significativas mudanças na alcalinidade produzida.

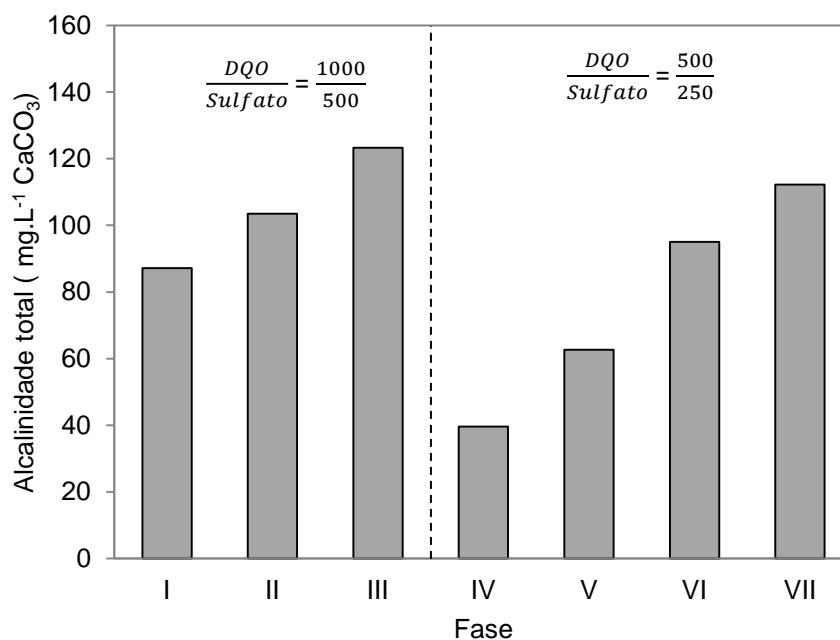


Figura 30 - Alcalinidade para as fases I,II,III, IV,V,VI e VII.
Fonte: Da autora.

Acerbi (2015) estudou diferentes estratégias de operação em um reator UASB para tratamento de DAM. Foram testados duas fontes de carbono, etanol e lactato, variado o pH afluente e a relação DQO/sulfato. O valor do pH afluente (3,23 – 4,00), apresentou valor de pH efluente em torno de 5 quando utilizado etanol como matéria orgânica. O autor justificou este fato devido ao acúmulo de ácido acético no sistema, o qual possui pKa de 4,76 e tem a capacidade de tamponar o meio nessa faixa de pH.

Pimenta (2014) avaliou qual dentre as fontes de carbono, acetato, etanol e lactato, seria a mais adequada para a partida de um reator UASB em escala de bancada. O trabalho teve como objetivo o tratamento de DAM em pH igual a 3. O reator alimentado com etanol apresentou melhor resultado, com remoção de sulfato superior a 90%. O valor do pH efluente foi

igual a $5,1 \pm 0,1$. O autor justifica esse valor, em parte, pelo acúmulo de ácidos voláteis no sistema. Outro aspecto considerado, foi a geração de alcalinidade pelo metabolismo anaeróbio (metanogênese e sulfetogênese), capaz de equilibrar o pH efluente tamponado pelo acetato.

A alcalinidade total está contabilizada na forma intermediária ($4,30 < \text{pH} < 5,75$), ou seja, toda a alcalinidade procede dos ácidos voláteis.

O aumento da velocidade resultou em crescimento na produção de alcalinidade conforme representado pela figura 30, resultante dos valores de pH efluente.

A diminuição da matéria orgânica resultou na diminuição de ácidos orgânicos formados e, conseqüentemente, na alcalinidade produzida. Este fato aponta para a prevalência das BRS incompletas.

5.3.2 Comentários Gerais

Através das análises dos resultados, tem-se que para as concentrações de sulfato de 250 e 500mg.L⁻¹, o aumento da velocidade em 5 e 25 vezes resultou em maior eficiência de remoção de sulfato e DQO, decorrente do maior contato do meio de DAM com os microrganismos, possibilitado através do aumento da velocidade de escoamento. Além disso, ao aumentar a velocidade foi possível perceber comportamentos diferentes entre as fases, como a eficiência de remoção de sulfato em cada ponto e o efeito do acúmulo de ferro. Foi possível observar através dos resultados que a velocidade além de influenciar diretamente na eficiência de remoção de sulfato e DQO, exerce outros efeitos que geram interferência no tratamento do efluente. Não foi observado no presente trabalho o desprendimento de biomassa, porém altas velocidades podem causar este efeito, como constatado por Vieira (1997), em que as velocidades angular de 100, 150, 200, 250 e 300rpm foram testadas, a autora observou desprendimento completo de biomassa aderida nas matrizes de espuma de poliuretano em rotações maiores que 150rpm.

De modo a visualizar as concentrações dos elementos ferro, DQO e sulfeto em condição de remoção próxima de 100% para o sulfato, foi realizada a fase VII. O volume para essa fase foi diminuído para 150ml, enquanto as outras seis mantinham o volume de 300ml. Diminuir o volume do sistema apresenta o mesmo efeito que aumentar o tempo de ciclo da reação. A eficiência de remoção de sulfato para essa condição foi igual a 96,37%, enquanto a de ferro foi de 49,33% e para DQO de 39,52%. O ferro apresentou essa remoção, pois a sua concentração era elevada pela quantidade de biomassa presente no reator, comprovando seu efeito inibitório sobre as mesmas.

Através dos resultados obtidos e discutidos nos itens 5.3.1.1 a 5.3.1.5, é possível aferir o provável predomínio das BRS que degradam a matéria orgânica até acetato. Esta hipótese é enfatizada pela presença de etanol, no qual há favorecimento do estabelecimento das bactérias oxidadoras incompletas (WIDDEL,1988).

Os valores de remoção de sulfato, DQO e ferro estão apresentados na tabela 7, 8 e 9, respectivamente.

Tabela 7 - Média de $\text{SO}_4^{2-\text{A}}$, $\text{SO}_4^{2-\text{R}}$ e das eficiências de remoção para sulfato relacionado a cada fase estudada.

Fase	Velocidade ($\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$)	DQO/ SO_4^{2-} ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	$\text{SO}_4^{2-\text{A}}$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	$\text{SO}_4^{2-\text{R}}$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Eficiência (%)
I	0,07		493 ± 36	287 ± 17	41,74
II	0,35	1000/500	498 ± 43	315 ± 19	36,65
III	1,75		552 ± 59	287 ± 17	48,02
IV	0,07		261 ± 19	$95 \pm 6,6$	63,47
V	0,35	500/250	226 ± 18	$66 \pm 5,4$	70,75
VI	1,75		260 ± 19	$38 \pm 2,6$	85,39
VII	1,75	500/250	260 ± 19	$9 \pm 2,3$	96,37

Fonte: Da autora.

Tabela 8 - Média de DQO_A, DQO_R e das eficiências de remoção para DQO relacionado a cada fase estudada.

Fase	Velocidade (cm.min ⁻¹)	DQO/SO ₄ ²⁻ (mg.L ⁻¹)	DQO _A (mg.L ⁻¹)	DQO _R (mg.L ⁻¹)	Eficiência (%)
I	0,07		947 ± 39	774 ± 26	18,26
II	0,35	1000/500	967 ± 33	833 ± 27	13,80
III	1,75		1022 ± 33	810 ± 27	20,78
IV	0,07		491 ± 14	409 ± 11	16,66
V	0,35	500/250	478 ± 14	349 ± 11	27,14
VI	1,75		525 ± 31	363 ± 12	30,72
VII	1,75	500/250	525 ± 31	317 ± 21	39,52

Fonte: Da autora.

Tabela 9 - Média das concentrações de Fe²⁺_A e Fe²⁺_R e eficiência de remoção de Fe²⁺ relacionado a cada fase estudada.

Fase	Velocidade (cm.min ⁻¹)	DQO/SO ₄ ²⁻ (mg.L ⁻¹)	Fe ²⁺ _A (mg.L ⁻¹)	Fe ²⁺ _R (mg.L ⁻¹)	Eficiência (%)
I	0,07		25 ± 1,4	15 ± 0,5	39,39
II	0,35	1000/500	25 ± 0,8	17 ± 0,8	31,65
III	1,75		25 ± 0,8	25 ± 0,4	0
IV	0,07		23 ± 0,5	14 ± 0,4	39,94
V	0,35	500/250	26 ± 0,8	16 ± 0,4	38,60
VI	1,75		25 ± 0,6	16 ± 0,5	35,13
VII	1,75	500/250	25 ± 0,6	13 ± 0,8	49,33

Fonte: Da autora.

5.3.3 Ajuste cinético

Como exemplo para os cálculos dos resultados obtidos, optou-se por explanar em forma gráfica somente a fase preliminar 4, e apresentar os outros resultados em forma de tabela. Todas as fases realizadas seguiram o mesmo procedimento.

Na figura 31 está representado o perfil de concentração de sulfato em função do tempo para o teste 4 da etapa preliminar. Aos pontos experimentais obtidos da concentração de sulfato, foi ajustada a equação polinomial de segundo grau.

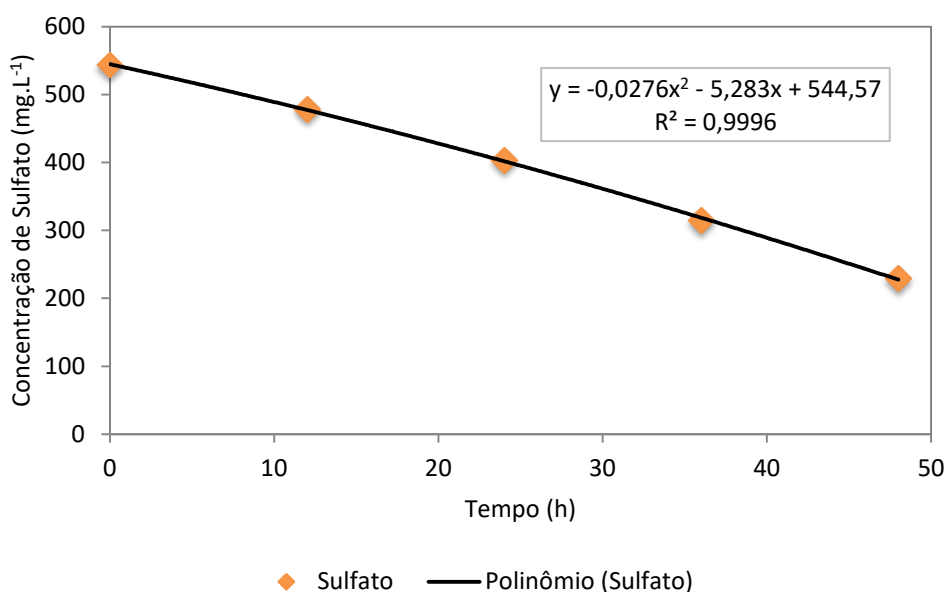


Figura 31 - Concentração de sulfato em função do tempo do teste preliminar 4 e a curva obtida por meio de regressão polinomial.

Fonte: Da autora.

O coeficiente de correlação (R^2) obtido para as curvas ajustadas e as respectivas equações estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 - Equação obtida de concentração de sulfato no meio líquido em função do tempo e coeficiente de correlação (R^2) para a velocidade de 0,07, 0,35 e 1,75 $\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$

Fase	Velocidade ($\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$)	Ca ($\text{mg SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$)	R^2
Preliminar 4	0,07	$-0,0276x^2 - 5,283x + 544,57$	0,9996
I	0,07	$0,0052x^2 - 4,3892x + 488,35$	0,9907
II	0,35	$-0,0605x^2 - 1,0795x + 501,08$	0,9888
III	1,75	$-0,0923x^2 - 1,2195x + 553,99$	0,9966
IV	0,07	$0,0168x^2 - 4,0586x + 253,34$	0,9548
V	0,35	$-0,0246x^2 - 2,4492x + 233,76$	0,9743
VI	1,75	$-0,0492x^2 - 2,6116x + 268,31$	0,9804
VII	1,75	$0,0877x^2 - 9,349x + 260,96$	0,9832

Fonte: Da autora.

Na tabela 11, está exposta a equação de velocidade específica de utilização de substrato observada (r_{obs}) para cada velocidade aplicada e a concentração de biomassa determinada no reator diferencial, encontrada conforme explicado na seção 4.7. O r_{obs} foi obtido através da divisão da derivada da equação polinomial de segundo grau pela concentração de biomassa presente no reator.

Tabela 11 - Equação obtida de velocidade específica observada (r_{obs}) e a concentração de biomassa.

Fase	Velocidade ($\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$)	X mg STV L^{-1}	r_{obs} ($\text{mg SO}_4^{2-} \text{ mgSTV}^{-1} \text{ h}^{-1}$)
Preliminar 4	0,07	40000	$1,3800 \times 10^{-6}t + 1,3208 \times 10^{-4}$
I	0,07	40000	$-2,6000 \times 10^{-7}t + 1,0973 \times 10^{-4}$
II	0,35	40000	$3,0250 \times 10^{-6}t + 2,6988 \times 10^{-5}$
III	1,75	40000	$4,6150 \times 10^{-6}t + 3,0488 \times 10^{-5}$
IV	0,07	40000	$-8,4000 \times 10^{-7}t + 1,0147 \times 10^{-4}$
V	0,35	40000	$1,2300 \times 10^{-6}t + 6,1230 \times 10^{-5}$
VI	1,75	40000	$2,4600 \times 10^{-6}t + 6,5290 \times 10^{-5}$
VII	1,75	40000	$-4,3850 \times 10^{-6}t + 2,3373 \times 10^{-4}$

Fonte: Da autora.

Na figura 32 se encontra o ajuste de modelo cinético de primeira ordem obtido a partir do perfil de $\ln(\text{Ca})$ em função do tempo, para o teste preliminar 4. As outras fases foram feitas seguindo o mesmo procedimento. O ajuste da curva é representado pela equação (20):

$$\ln Ca = -k_1 \cdot t + \ln Ca_0 \quad (20)$$

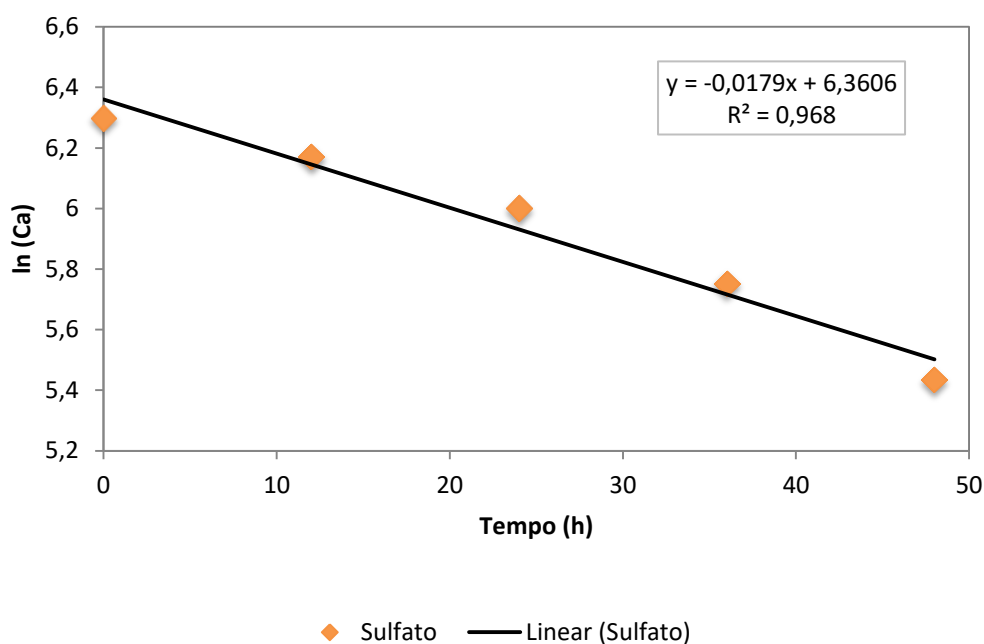


Figura 32 - Perfil de ajuste cinético para a curva do teste preliminar 4, modelo de primeira ordem.

Fonte: Da autora.

Para cada curva ajustada, foram estimados os parâmetros cinéticos intrínsecos de primeira ordem (K_1). Tais parâmetros e os coeficientes de correlação (R^2) estão apresentados na tabela 12.

Tabela 12 - Valores da constante cinética de primeira ordem (k_1) obtidos para cada fase.

Fase	Velocidade ($\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$)	K_1 (h^{-1})	R^2
Preliminar 4	0,07	0,0179	0,9658
I	0,07	0,0109	0,9872
II	0,35	0,0098	0,9264
III	1,75	0,0136	0,9029
IV	0,07	0,0200	0,9583
V	0,35	0,0269	0,9399
VI	1,75	0,0401	0,8892
VII	1,75	0,0648	0,9186

Fonte: Da autora.

Através da tabela 12, é possível observar que na fase preliminar, na qual não havia concentração de ferro, o valor da constante cinética K_1 apresentou valor 1,64 vezes maior do que para a mesma condição com a adição do ferro, demonstrando desta forma a inibição gerada por esse metal.

Pode-se observar através da tabela 12 o aumento da constante K_1 conforme a velocidade superficial é aumentada, exceto na fase II, a qual apresentou menor eficiência de redução de sulfato e DQO dentre as que foram estudadas nas mesmas condições. O comportamento da constante k é esperado, visto que seu aumento reflete que a reação está acontecendo de forma mais rápida. O mesmo comportamento foi obtido por Fazolo (2003), que variou a vazão de 2 a 15 $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ e constatou crescente aumento no valor de k_1 .

O modelo proposto de primeira ordem apresentou bom ajuste, com R^2 médio igual a 0,94. Por esse motivo optou-se por mantê-lo no trabalho, podendo dispensar outros métodos e modelos de ajuste. Além de apresentar a constante cinética com valores próximos aos da literatura, apesar das diferenças que existem na parte experimental entre os trabalhos.

Devido à variedade de condições operacionais possíveis para adotar no experimento, como variação da configuração do biorreator, característica do inóculo, concentrações, temperatura, entre outros, torna-se complexa a comparação da constante cinética entre os trabalhos. Entretanto, buscaram-

se na literatura, condições aproximadas para comparar os dados encontrados.

Na tabela 13, está apresentado um resumo comparando alguns dos resultados das pesquisas citadas neste tópico com os resultados obtidos por este trabalho. Vale ressaltar que na explanação a unidade foi mantida a mesma que os autores utilizaram em seus artigos, porém nesta tabela as unidades foram convertidas para tornar mais simples a comparação entre os mesmos.

Tabela 13 - Constante cinética de primeira ordem (k1) de redução do sulfato em comparação com a literatura com suas respectivas características.

Autor	Sulfato (mgSO ₄ ²⁻ L ⁻¹)	Doador de elétrons	T (°C)	K1 (h ⁻¹)
Preliminar 4 ^a				0,0179
I ^a	500	Etanol	30±1	0,0109
II ^a				0,0098
III ^a				0,0136
IV ^a				0,0200
V ^a	250	Etanol	30±1	0,0269
VI ^a				0,0401
VII ^a				0,0648
Subtil et al. (2012)	151 ^b	Esgoto Bruto	31±1,8	0,0421
Spear et .al. (2000)	96	Lactato	21±3	0,0022
	1000 ^c			0,0004
	2000 ^c			0,0955
	3000 ^c			0,0594
Sarti et al. (2010)	1000 ^d	Etanol	31±2	0,0002
	2000 ^d			0,0092
	3000 ^d			0,0000
	1000 ^e			0,0628
	2000 ^e			0,0100
	3000 ^e			0,0135

Fonte: Da autora.

Notas: ^a presente trabalho

^b relação DQO/sulfato = 1,81

^c Sulfato + Etanol → Acetato + H₂S

^d Sulfato + Etanol → H₂S + CO₂

^e Sulfato + Acetato → H₂S + CO₂

Na literatura são encontrados alguns trabalhos que mostram a cinética de redução de sulfato (GHIGLIAZZA; ROVATTI, 2000; MOHANTY et al., 2000; OYEKOLA; VAN; HARRISON, 2010; SILVA et al., 2011) sob diferentes características e modelos de ajuste.

Existem vários modelos matemáticos desenvolvidos para a degradação biológica de substratos, incluindo cinética de primeira ordem, cinética de Monod, cinética de Contois, cinética de Tessier e cinética de Moser. Cada tipo de cinética tem um foco específico. A cinética de primeira ordem, por exemplo, considera a concentração de substrato como a principal força que determina as taxas de reação, o que significa que a concentração de enzima não é uma limitação no sistema. Como uma melhoria para a cinética de Monod, o modelo de Contois considera o fato de que a alta concentração de células fixadas na superfície das partículas poderia inibir a degradação do substrato, ou seja, é utilizado para representar efeitos de limitações de difusão no interior da biomassa imobilizada (VAVILIN, 1996; WANG; LI, 2014; WANG, 2016).

Moosa (2002) utilizou o modelo cinético de Contois modificado por Chen e Hashimoto (1980) para encontrar os parâmetros cinéticos de crescimento bacteriano e biorredução de sulfato. As constantes k_s (constante de saturação) obtidas para o biorreator contínuo operado em 35°C e pH igual a 7,8 foi de 0,027, 0,038, 0,071 e 0,125kg.m³ para as concentrações de sulfato inicial de 1, 2, 5 e 10Kg.m³, respectivamente.

Sarti et al. (2010) operaram um reator ASBBR para o tratamento de água residuária em três concentrações de sulfato: 1000, 2000 e 3000mg.L⁻¹. A constante cinética de primeira ordem encontrada pelos autores considerando a sulfetogênese incompleta foi de 0,000437, 0,095578 e 0,059420h⁻¹, respectivamente. Considerando a sulfetogênese completa, a constante encontrada corresponde a 0,000235, 0,009219 e 0, seguindo a ordem crescente da concentração de sulfato. A fonte de carbono utilizado foi o etanol. Em altas concentrações (2000 - 3000mg.L⁻¹) houve predomínio das bactérias redutoras de sulfato incompletas. Por outro lado, para a concentração de 1000mg.L⁻¹, a redução foi realizada principalmente por organismos acidogênicos, retratando a conversão do etanol em ácido acético.

Os resultados mostram que espécies distintas apresentam diferentes preferências metabólicas em determinadas condições.

Hordijk, Hagenaars e Cappenberg (1984) realizaram estudos cinéticos de redução de sulfato por BRS em sedimentos de água doce, realizado por cromatografia líquida de alta pressão e microdestilação. Para calcular a constante k , os autores utilizaram o método de Turnover (BOUDART, 1995). Foi avaliada a constante cinética para diferentes tamanhos de sedimentos, sendo eles 86, 32, 12 e $3\mu\text{m}$, os k correspondentes são 2,1, 3,2, 3,2 e 5,1, respectivamente. Através dos dados, é possível perceber maiores valores de k para sedimentos que apresentam menor tamanho.

Spear, Figueroa e Honeyman (2000) estudaram a cinética de redução de sulfato e a cinética de redução para sulfato e urânio conjuntamente, ambas utilizando cultura mista e pura de BRS. A cultura mista continha a BRS *Desulfovibrio vulgaris* juntamente com a *Clostridium* sp. O trabalho foi realizado em reator batelada e em temperatura de $21\pm 3^\circ\text{C}$. A fonte de carbono utilizada foi o lactato. A redução do sulfato foi mais bem descrita pela ordem zero, por outro lado, o modelo que se ajustou melhor aos dados da redução do sulfato associado ao metal urânio foi o de primeira ordem. A concentração de urânio foi de 1mM para todas as fases, enquanto a de sulfato variou entre 0,25, 1,0, 10 (para cultura mista de células) e 1mM (para cultura pura *D. desulfuricans*), os valores para a constante cinética de primeira ordem foram de 0,041, 0,071, 0,039 e $0,137\text{min}^{-1}$ ($0,022\text{h}^{-1}$), respectivamente.

Bernardez et al. (2013) estudaram a redução do sulfato utilizando BRS em reator batelada. Foi utilizada água deionizada como doador de elétrons com as seguintes concentrações de sulfato inicial: 823, 1282 e 1790ml.L^{-1} . A cinética de primeira ordem descreve o processo. O parâmetro cinético k_1 para geração de sulfeto foi de 0,046, 0,019 e $0,030\text{h}^{-1}$, respectivamente.

Subtil, Cassini e Gonçalves (2012) avaliaram a cinética de redução de sulfato em reator UASB tratando águas residuais domésticas com baixas concentrações de matéria orgânica e sulfato. Segundo o autor, o modelo cinético de primeira ordem mostrou bom ajuste para descrever a redução de

sulfato para diferentes relações DQO/sulfato. A constante cinética de primeira ordem foi de $2,94 \times 10^{-5}$, $2,03 \times 10^{-5}$, $1,56 \times 10^{-5}$ e $1,17 \times 10^{-5} \text{s}^{-1}$ para as relações DQO/sulfato de 1,16, 1,48, 1,70 e 1,81, respectivamente.

Na tabela 13, cada pesquisa tem sua peculiaridade e características, entretanto todos eles trabalharam na redução de sulfato em águas residuárias. Através desta tabela é possível avaliar o parâmetro cinético k_1 para reações de primeira ordem sendo comparáveis aos encontrados na literatura.

A partir dos resultados obtidos nesta pesquisa, verificou-se que os reatores diferenciais são adequados para determinar os parâmetros cinéticos, além de possibilitar menor gasto de reagentes.

5.3.4 Avaliação de transferência de massa interna

O presente trabalho visa encontrar os parâmetros cinéticos e os efeitos de transferência de massa interna nos biorreatores utilizando biomassa granular, sendo um dos primeiros a trabalhar neste tópico para redução de sulfato em águas residuais.

Na tabela 14 estão representados os valores do módulo de Thiele observado (ϕ) para cada fase estudada. Os resultados apresentaram valores bem menores do que 0,3, critério utilizado por Baylei e Ollis para avaliar se há resistência a transferência de massa intraparticular em sistemas com células imobilizadas, conforme retratado na revisão bibliográfica, tabela 1. De acordo com esse critério, pode-se aferir pelos dados obtidos que não há resistência a transferência de massa interna para essas condições, sendo a velocidade de consumo de substrato limitada à cinética da reação e não aos efeitos difusionais.

Tabela 14 - Valores de módulo de Thiele observado (φ) obtidos para cada fase.

Fase	Velocidade (cm.min ⁻¹)	Módulo de Thiele observado (φ)
Preliminar 4	0,07	0,0086
I	0,07	0,0071
II	0,35	0,0018
III	1,75	0,0020
IV	0,07	0,0132
V	0,35	0,0080
VI	1,75	0,0085
VII	1,75	0,0304

Fonte: Da autora.

Devido à escassez na literatura de trabalhos que utilizam redução do sulfato e biomassa granular para o cálculo de resistência interna à transferência de massa, o critério de comparação foi para tratamento de efluentes líquidos em sistema anaeróbio, conforme representado pela tabela 15. Maiores informações dos trabalhos apresentados estão relatados no texto.

Gagnon e Huck (2001) utilizaram carvão ativado granular biologicamente ativo para filtrar água de torneira e usar como inóculo para o crescimento de biofilmes em reatores anulares. Teve como principal objetivo analisar a taxa de utilização de compostos orgânicos por biofilmes e comparar a taxa de transferência de massa da matéria orgânica biodegradável na superfície do biofilme e no seu interior. Chegaram a conclusão que nem a resistência de massa externa e nem a interna limitou a remoção da matéria orgânica. Através da regressão linear, os autores concluíram que o processo aproxima-se de uma expressão de primeira ordem. Para encontrar os valores de módulo de Thiele, os pesquisadores adotaram os seguintes valores de fluxos de matéria orgânica biodegradável: 0,22, 1,8, 3,0, 6,7, 0,071, 0,53, 0,087 e 0,30mgC/m².h, de forma respectiva aos valores representados na tabela.

Moraes e Foresti (2012) determinaram os parâmetros cinéticos intrínsecos da desnitrificação autotrófica via nitrato e nitrito com o uso de reatores diferenciais contendo biomassa imobilizada. Os reatores foram alimentados com esgoto sintético e foram aplicadas diferentes concentrações

de sulfeto. Os autores chegaram a conclusão que um modelo cinético de meia ordem poderia ser aplicado para descrever este bioprocesso. O módulo de thiele observado encontrado pelos autores através da desnitrificação via nitrato foi de 0,003 para as velocidades de 0,054 e 0,075cm.s⁻¹. Para a desnitrificação via nitrito os valores achados corresponde a 0,012 e 0,014 para as velocidades de 0,069 e 0,075cm.s⁻¹, respectivamente.

Damasceno (2008) avaliou a degradação do aldicarbe em biorreator anaeróbio horizontal de leito fixo. No trabalho foi estudado três níveis de oxidação, sendo eles o metanogênico, sulfetogênico e desnitrificante. O autor realizou ensaios em reatores diferenciais com concentração de 10mg.L⁻¹ de aldicarbe para avaliar a existência de resistência à transferência de massa e os parâmetros cinéticos. Os resultados demonstraram que não houve influência significativa de resistência à transferência de massa externa e interna na velocidade global de conversão de aldicarbe. A constante cinética de primeira ordem encontrada foi de $1,46 \pm 0,09 \cdot 10^{-5} \text{L.mgSTV}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. As velocidades testadas para os módulos de thiele apresentados na tabela foram de 4,2, 25,5 e 78,3cm.h⁻¹, respectivamente.

Zaiat, Vieira e Foresti (1997) realizaram o tratamento de águas residuárias em um reator diferencial para avaliar os parâmetros cinéticos intrínsecos e a resistência a transferência de massa interna. A biomassa foi imobilizada em matrizes de espuma de poliuretano e glicose foi utilizada como substrato. O módulo de thiele foi calculado em função da concentração do substrato, o qual apresenta as seguintes concentrações: 228, 220, 170, 140, 110, 80 e 50mgDQO.L⁻¹, de forma respectiva aos valores da tabela.

Apesar de cada trabalho ter uma especificidade e possuir variação de dados dentro das suas próprias pesquisas, todas as literaturas apresentadas na tabela 15 apresentam valores de módulo de Thiele observado bem inferiores ao considerado para existir resistência à transferência de massa interna (0,3).

Tabela 15 - Módulo de Thiele observado em comparação com a literatura em tratamento anaeróbio de águas residuárias

Autor	Tratamento	Módulo de Thiele observado (φ)
Preliminar 4 ^a		0,0086
I ^a		0,0071
II ^a		0,0018
III ^a	Redução de sulfato	0,0020
IV ^a		0,0132
V ^a		0,0080
VI ^a		0,0085
VII ^a		0,0304
		0,015
		0,087
		0,087
Gagnon e Huck (2001)	Degradação de matéria orgânica	0,086
		0,020
		0,066
		0,016
		0,024
		0,059
		0,065
Zaiat et al. (1997)	Degradação de matéria orgânica (glicose)	0,073
		0,084
		0,098
		0,116
		0,143
Moraes e Foresti (2012)	Desnitrificação via nitrato	0,003
	Desnitrificação via nitrito	0,012
		0,014
Damasceno (2008)	Degradação de matéria orgânica (aldicarbe)	0,0091
		0,0084
		0,0091

Fonte: Da autora.

Nota: ^a presente trabalho

Segundo Gapes, Wilén e Keller (2004), em sistemas que utilizam flocos ou grânulos, a resistência à transferência de massa externa não é possível de ocorrer em sistemas com ausência de limitação de transferência de massa interna. Por outro lado, a limitação de transferência de massa interna pode ocorrer na ausência da externa. Dada essa constatação, como no presente trabalho não houve resistência intraparticular, a resistência externa pôde

ser desprezada. E através dos resultados obtidos pelo módulo de thiele observado, conclui-se que para essas condições adotadas no trabalho, não há predomínio de efeitos de transporte.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos durante o desenvolvimento deste trabalho permitem concluir que:

- ✓ O método proposto para determinação dos raios equivalentes das biopartículas através do software CAD se mostrou satisfatório. Por meio dessa ferramenta foi possível quantificar a área de cada grânulo da amostra e por fim obter o valor médio do raio equivalente igual a $1,835 \pm 0,05$ mm.
- ✓ O ferro apresentou acúmulo por adsorção nos biorreatores, visualizado através do segundo ponto dos perfis temporais e provocou inibição nos reatores em altas concentrações (igual a 100mg.L^{-1}).
- ✓ O aumento da velocidade de escoamento nos biorreatores diferenciais resultou em melhor eficiência de remoção de sulfato e DQO, decorrente do maior número de vezes em que o volume foi trocado quando utilizado maiores velocidades, o que possibilitou maior contato do meio de DAM com os microrganismos.
- ✓ O modelo cinético de primeira ordem mostrou-se representativo para descrever a redução do sulfato em todas as fases estudadas e as constantes apresentaram tendência de elevação com o aumento da velocidade superficial.
- ✓ Os valores de módulo de Thiele observado indicam que não há resistência intraparticular para as condições operacionais estudadas.

7 SUGESTÕES

- Determinar parâmetros cinéticos na redução de sulfato em diferentes temperaturas.
- Determinar parâmetros cinéticos utilizando imobilização celular em suporte inerte, e comparar este com os parâmetros obtidos através da imobilização em biomassa granular.
- Comparar modelos para ajuste cinético (cinética de primeira ordem, Monod, Contois e de Moser, por exemplo).
- Mudar a relação DQO/sulfato para avaliar seu efeito no comportamento do sistema.
- Determinar parâmetros cinéticos utilizando outras fontes de carbono, como o soro de leite ou glicose, por exemplo.

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.
- AKCIL, A.; KOLDAS, S. Acid Mine Drainage (AMD): causes, treatment and case studies. **Journal of Cleaner Production**, v. 14, n. 12, p. 1139–1145, 2006.
- ARAÚJO, C.J. **Biorremediação de drenagem ácida sintética de mina por reatores UASB em escalas de bancada e piloto**. 2017. 167f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.
- BAGHERI, G. H.; BONADONNA C.; VONLANTHEN. P. On the characterization of size and shape of irregular particles. **Powder Technology**, v. 270, p. 141-153, 2015.
- BAILEY, J.E.; OLLIS, D.F. **Biochemical engineering fundamentals**. 2ed, Mc Grow Hill Book Company, 1986.
- BAKER, B. J.; BANFIELD, Jillian F. Microbial communities in acid mine drainage. **FEMS microbiology ecology**, v. 44, n. 2, p. 139-152, 2003.
- BARBOSA, L. P. et al. Effects of different COD/sulfate ratios on the growth of metal tolerant sulfate reducing bacteria (SRB). **Trans Tech Publications**, p. 569-572, 2009.
- BERNARDEZ, L. A. et al. A kinetic study on bacterial sulfate reduction. **Bioprocess and biosystems engineering**, v. 36, n. 12, p. 1861-1869, 2013.
- BIGHAM, J. M.; SCHWERTMANN, U.; PFAB, G. Influence of pH on mineral speciation in a bioreactor simulating acid mine drainage. **Applied geochemistry**, v. 11, n. 6, p. 845-849, 1996.
- BOUDART, M. Turnover rates in heterogeneous catalysis. **Chemical reviews**, v. 95, n. 3, p. 661-666, 1995.
- BRINGI, V.; DALE, B.E. (1990). Experimental and theoretical evidence for convective nutrient transport in an immobilized cell support. **Biotechnology Progress**, v.6, n.3, p.205 - 209.
- CARREL, M. et al. Pore-Scale Hydrodynamics in a Progressively Bioclogged Three-Dimensional Porous Medium: 3-D Particle Tracking Experiments and

Stochastic Transport Modeling. **Water resources research**, v. 54, n. 3, p. 2183-2198, 2018.

CHEN, Y. R.; HASHIMOTO, A. G. Substrate utilization kinetic model for biological treatment process. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 22, n. 10, p. 2081-2095, 1980.

CHOI, E.; RIM, J. M. Competition and inhibition of sulfate reducers and methane producers in anaerobic treatment. **Water science and technology**, v. 23, n. 7-9, p. 1259-1264, 1991.

COSTA, J.M. **Remoção de sulfato e metais presentes na drenagem ácida de mina utilizando reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais**. 2014. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental). Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, 2014.

CREMASCO, M. A. **Fundamentos de Transferência de Massa**, 2ª. Edição revista, Editora UNICAMP, 2002.

DAMASCENO, L. H. S. **Degradação do aldicarbe em biorreator anaeróbio horizontal de leito fixo**. 2008. 161f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos, USP, São Carlos.

DENG, D.; WEIDHAAS, J. L.; LIN, L.S. Kinetics and microbial ecology of batch sulfidogenic bioreactors for co-treatment of municipal wastewater and acid mine drainage. **Journal of Hazardous materials**, v. 305, p. 200-208, 2016.

DOMINGUES, M. R. **Avaliação da metanogênese e sulfetogênese em reatores anaeróbios em batelada e de leito fixo, sob condições termofílicas**. 2001. 194f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos, USP, São Carlos, 2001.

DORAN, P.M. **Bioprocess engineering principles**. Elsevier Science & Technology Books, 1995.

DVORAK, D. H. et al. Treatment of metal contaminated water using bacterial sulfate reduction: Results from pilot-scale reactors. **Biotechnology and bioengineering**, v. 40, n. 5, p. 609-616, 1992.

EL BAYOUMY M.A. et al. Sulfide production by sulfate reducing bacteria with lactate as feed in an upflow anaerobic fixedfilm reactor. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 112, n. 1-2, p. 67-84, 1999.

ELLIOTT, P.; RAGUSA, S.; CATCHESIDE, D. Growth of sulfate-reducing bacteria under acidic conditions in an upflow anaerobic bioreactor as a

treatment system for acid mine drainage. **Water Research**, v. 32, n. 12, p. 3724-3730, 1998.

EVANGELOU, V. P.; ZHANG, Y. L. A review: pyrite oxidation mechanisms and acid mine drainage prevention. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 25, n. 2, p. 141-199, 1995.

FAZOLO, A. **Determinação de parâmetros cinéticos e de transferência de massa em reator radial aeróbio-anóxico alimentado com esgoto sanitário tratado em reator anaeróbio**. 2003. 185 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

FOUCHER, S.; IGNATIADIS, I.; MORIN, D. Treatment by sulfate-reducing bacteria of Chessy acid-mine drainage and metals recovery. **Chemical Engineering Science**, v. 56, n. 4, p. 1639-1645, 2001.

FURUSAKI, S.; SEKI, M. Effect of intraparticle mass transfer resistance on reactivity of immobilized yeast cells. **Journal of chemical engineering of Japan**, v. 18, n. 5, p. 389-393, 1985.

GAGNON, G. A.; HUCK, P. M. Removal of easily biodegradable organic compounds by drinking water biofilms: analysis of kinetics and mass transfer. **Water Research**, v. 35, n. 10, p. 2554-2564, 2001.

GAPES, D.; WILÉN, B.-M.; KELLER, J. Mass transfer impacts in flocculent and granular biomass from SBR systems. **Water Science and Technology**, v. 50, n. 10, p. 203-212, 2004.

GARCIA, C. et al. Bioremediation of an industrial acid mine water by metal-tolerant sulphate-reducing bacteria. **Minerals Engineering**, v. 14, n. 9, p. 997-1008, 2001.

GHIGLIAZZA, R.; LODI, A.; ROVATTI, M. Kinetic and process considerations on biological reduction of soluble and scarcely soluble sulfates. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 29, n. 3, p. 181-194, 2000.

GHOSE, T. K.; WIKÉN, T. Inhibition of bacterial sulphate-reduction in presence of short chain fatty acids. **Physiologia Plantarum**, v. 8, n. 1, p. 116-135, 1955.

GREEN, Don W. **Perry's chemical engineers'**. McGraw Hill, 2008.
HENZE, M.; HARREMOËS, P. Anaerobic treatment of wastewater in fixed film reactors—a literature review. **Water science and technology**, v. 15, n. 8-9, p. 1-101, 1983.

HORDIJK, K. A.; HAGENAARS, Charles PMM; CAPPENBERG, Thomas E. Kinetic studies of bacterial sulfate reduction in freshwater sediments by high-pressure liquid chromatography and microdistillation. **Applied and environmental microbiology**, v. 49, n. 2, p. 434-440, 1985.

HOUTEN, R.T.V.; POL, L. W. H.; LETTINGA, G. Biological sulphate reduction using gas lift reactors fed with hydrogen and carbon dioxide as energy and carbon source. **Biotechnology and bioengineering**, v. 44, n. 5, p. 586-594, 1994.

HURTADO, C.; VIEDMA, P.; COTORAS, D. Design of a bioprocess for metal and sulfate removal from acid mine drainage. **Hydrometallurgy**, v. 180, p. 72-77, 2018.

JACOBS, J. A.; LEHR, J. H.; TESTA, S. M. **Acid mine drainage, rock drainage, and acid sulfate soils: causes, assessment, prediction, prevention, and remediation**. John Wiley & Sons, 2014.

KAKSONEN, A. H.; FRANZMANN, P. D.; PUHAKKA, J. A. Effects of hydraulic retention time and sulfide toxicity on ethanol and acetate oxidation in sulfate reducing metal precipitating fluidized bed reactor. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 86, n. 3, p. 332-343, 2004.

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

KEFENI, K. K.; MSAGATI, T. A. M.; MAMBA, B. B. Acid mine drainage : Prevention , treatment options , and resource recovery : A review. **Journal of Cleaner Production**, v. 151, p. 475-493, 2017.

KOLMERT, Å.; JOHNSON, D. Barrie. Remediation of acidic waste waters using immobilised, acidophilic sulfate-reducing bacteria. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process*, **Environmental & Clean Technology**, v. 76, n. 8, p. 836-843, 2001.

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

KOUSHI, P. et al. Metal precipitation in an ethanol-fed, fixed-bed sulphate-reducing bioreactor. **Journal of Hazardous Materials**, v. 189, n. 3, p. 677-684, 2011.

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.

LEWIS, A. E. Review of metal sulphide precipitation. **Hydrometallurgy**, v. 104, n. 2, p. 222-234, 2010.

LIAMLEAM, W.; ANNACHHATRE, A. P. Electron donors for biological sulfate reduction. **Biotechnology advances**, v. 25, n. 5, p. 452-63, 2007.

LIU, F. et al. Bioremoval of arsenic and antimony from wastewater by a mixed culture of sulfate-reducing bacteria using lactate and ethanol as carbon sources. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 126, n. December 2016, p. 152-159, 2018.

LIU, Y.; TAY, J.. State of the art of biogranulation technology for wastewater treatment. **Biotechnology advances**, v. 22, n. 7, p. 533-563, 2004.

MARTINS, M. et al. Characterization and activity studies of highly heavy metal resistant sulphate-reducing bacteria to be used in acid mine drainage decontamination. **Journal of Hazardous Materials**, v. 166, p. 706-713, 2009.

MATLOCK, M. M.; HOWERTON, B. S.; ATWOOD, D. A. Chemical precipitation of heavy metals from acid mine drainage. **Water research**, v. 36, n. 19, p. 4757-4764, 2002.

MEYER, W. W.; HEGEDUS, L. L.; ARIS, R. Geometrie correction factors for the Weisz diffusivity cell. **Journal of Catalysis**, v. 42, n. 1, p. 135-138, 1976.

MOHAN, S. V. et al. Bioaugmentation of an anaerobic sequencing batch biofilm reactor (AnSBBR) with immobilized sulphate reducing bacteria (SRB) for the treatment of sulphate bearing chemical wastewater. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 8, p. 2849-2857, 2005.

MOHANTY, S. S. et al. Kinetics of SO_4^{2-} reduction under different growth media by sulfate reducing bacteria. **BioMetals**, v. 13, n. 1, p. 73-76, 2000.

MOOSA, S.; NEMATI, M.; HARRISON, S. T. L. A kinetic study on anaerobic reduction of sulphate, Part I: Effect of sulphate concentration. **Chemical Engineering Science**, v. 57, n. 14, p. 2773-2780, 2002.

MOOSA, S.; NEMATI, M.; HARRISON, S. T. L. A kinetic study on anaerobic reduction of sulphate, part II: Incorporation of temperature effects in the kinetic model. **Chemical Engineering Science**, v. 60, n. 13, p. 3517-3524, 2005.

MORAES, B. S.; FORESTI, E. Bioresource Technology Determination of the intrinsic kinetic parameters of sulfide-oxidizing autotrophic denitrification in

differential reactors containing immobilized biomass. **Bioresource Technology**, v. 104, p. 250–256, 2012.

MORAES, B.S. **Desnitrificação autotrófica com o uso de sulfeto e integração com o processo de nitrificação em um único reator**. 2012. 285f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento). Escola de Engenharia de São Carlos, USP, São Carlos.

MUDHOO, A.; KUMAR, S. Effects of heavy metals as stress factors on anaerobic digestion processes and biogas production from biomass. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 10, n. 6, p. 1383–1398, 29 jan. 2013.

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

NAME, T.; SHERIDAN, C. Remediation of acid mine drainage using metallurgical slags. **Minerals Engineering**, v. 64, p. 15-22, 2014.

NECULITA, C.; ZAGURY, G. J.; BUSSIÈRE, B. Passive treatment of acid mine drainage in bioreactors using sulfate-reducing bacteria. **Journal of Environmental Quality**, v. 36, n. 1, p. 1-16, 2007.

OSTVAR, S. et al. Investigating the influence of flow rate on biofilm growth in three dimensions using microimaging. **Advances in Water Resources**, v. 117, p. 1-13, 2018.

OYEKOLA, O. O.; VAN HILLE, R.P.; HARRISON, S.T.L. Kinetic analysis of biological sulphate reduction using lactate as carbon source and electron donor: effect of sulphate concentration. **Chemical Engineering Science**, v. 65, n. 16, p. 4771-4781, 2010.

PEPPAS, A.; KOMNITSAS, K.; HALIKIA, I. Use of organic covers for acid mine drainage control. **Minerals Engineering**, v. 13, n. 5, p. 563-574, 2000.

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. 133f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental) – Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas.

PICIOREANU, C. et al. Impact of cell cluster size on apparent half-saturation coefficients for oxygen in nitrifying sludge and biofilms. **Water research**, v. 106, p. 371-382, 2016.

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.

R Core Team (2018). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

RATUSZNEI, S. M. et al. Feasibility of a stirred anaerobic sequencing batch reactor containing immobilized biomass for wastewater treatment. **Bioresource Technology**, v. 75, n. 2, p. 127-132, 2000.

REIS, M. A. M. et al. Influence of produced acetic acid on growth of sulfate reducing bacteria. **Biotechnology letters**, v. 12, n. 2, p. 145-148, 1990.

RIBEIRO, R. **Influência do tipo de substrato na dinâmica de formação do biofilme em matrizes de poliuretano**. 2001. 221f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

RICE, E. W. et al. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. American Public Health Association, American Water Works Association, and Water Environment Federation. 2012.

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

RODRIGUES, J. A. D. et al. **Algumas metodologias de análises físico-químicas relacionadas ao tratamento anaeróbico de águas residuárias**. Universidade de São Paulo. Instituto Mauá de Tecnologia. São Caetano do Sul, 2006.

RODRIGUEZ, R. P. **Aplicação de reatores anaeróbios para remoção de sulfato de águas de drenagem ácida de minas**. 2010. 198f. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola de Engenharia de São Carlos, USP, São Carlos, 2010.

SÁNCHEZ-ANDREA, I. et al. Enrichment and isolation of acidophilic sulfate-reducing bacteria from T into R river sediments. **Environmental microbiology reports**, v. 5, n. 5, p. 672-678, 2013.

SÁNCHEZ-ANDREA, I. et al. Sulfate reduction at low pH to remediate acid mine drainage. **Journal of Hazardous Materials**, v. 269, n. 3, p. 98-109, 2014.

SARTI, A. et al. Microbial processes and bacterial populations associated to anaerobic treatment of sulfate-rich wastewater. **Process biochemistry**, v. 45, n. 2, p. 164-170, 2010.

SHEORAN, A. S.; SHEORAN, V.; CHOUDHARY, R. P. Bioremediation of acid-rock drainage by sulphate-reducing prokaryotes: A review. **Minerals Engineering**, v. 23, n. 14, p. 1073–1100, nov. 2010.

SILVA, A. J. et al. Kinetic modeling and microbial assessment by fluorescent in situ hybridization in anaerobic sequencing batch biofilm reactors treating sulfate-rich wastewater. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 28, n. 2, p. 209-219, 2011.

SILVA, F. D. R. **Precipitação de níquel e de cobre por íons sulfeto para o tratamento de efluentes industriais**. 2011. 103f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais da REDEMAT) - Rede Temática em Engenharia de Materiais, REDEMAT, Ouro Preto, 2011.

SPEAR, John R.; FIGUEROA, Linda A.; HONEYMAN, Bruce D. Modeling reduction of uranium U (VI) under variable sulfate concentrations by sulfate-reducing bacteria. **Applied and environmental microbiology**, v. 66, n. 9, p. 3711-3721, 2000.

SPERLING, M. V. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. In: **Princípios básicos do tratamento de esgotos**. 2.ed. Universidade Federal de Minas Gerais, 2018.

SUBTIL, E. L.; CASSINI, S. T. A.; GONÇALVES, R. F. Sulfate and dissolved sulfide variation under low COD/Sulfate ratio in Up-flow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) treating domestic wastewater. **Revista Ambiente & Água**, v. 7, n. 1, p. 130-139, 2012.

TAYLOR, B. E.; WHEELER, M. C.; NORDSTROM, D. K. Stable isotope geochemistry of acid mine drainage: Experimental oxidation of pyrite. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 48, n. 12, p. 2669-2678, 1984.

TOLEDO FILHO, M. F. **Efeito da estratégia de alimentação do AnSBBR utilizado no tratamento de drenagem ácida sintética de mina**. 2018. 147 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental). Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, 2018.

TSUKAMOTO, T. K.; KILLION, H. A.; MILLER, G. C. Column experiments for microbiological treatment of acid mine drainage: low-temperature, low-pH and matrix investigations. **Water Research**, v. 38, n. 6, p. 1405-1418, 2004.

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

VAVILIN, V. A.; RYTOV, S. V.; LOKSHINA, L. Ya. A description of hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic matter. **Bioresource technology**, v. 56, n. 2-3, p. 229-237, 1996.

VELA, F. J. et al. Estimation of substrate effective diffusivities in anaerobic bioparticles. **Environmental technology**, v. 20, n. 11, p. 1163-1170, 1999.

VELASCO, A. et al. Evaluation of feed COD/sulfate ratio as a control criterion for the biological hydrogen sulfide production and lead precipitation. **Journal of Hazardous Materials**, v. 151, n. 2-3, p. 407-413, 2008.

VIEIRA, L.G.T. **Estimativa de parametros cineticos intrínsecos de utilização de substrato por lodo imobilizado**. 1996. 63f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1996.

WANG, Y. T. et al. Kinetics of methanogens in an expanded-bed reactor. **Journal of Environmental Engineering**, v. 112, n. 1, p. 155-170, 1986.

WANG, Y.; WITARSA, F. Application of Contois, Tessier, and first-order kinetics for modeling and simulation of a composting decomposition process. **Bioresource technology**, v. 220, p. 384-393, 2016.

WANG, Z. W.; LI, Y. A theoretical derivation of the Contois equation for kinetic modeling of the microbial degradation of insoluble substrates. **Biochemical engineering journal**, v. 82, p. 134-138, 2014.

WEISZ, P. B. Diffusion and chemical transformation. **Science**, v. 179, n. 4072, p. 433-440, 1973.

WIDDEL, F. Microbiology and ecology of sulfate-and sulfur-reducing bacteria. In: A.Zehnder (ed.) **Biology of Anaerobic Microorganisms**. Wiley, New York, p. 469-585, 1988.

WILLOW, M. A.; COHEN, R. R. H. pH, dissolved oxygen, and adsorption effects on metal removal in anaerobic bioreactors. **Journal of Environmental Quality**, v. 32, n. 4, p. 1212-1221, 2003.

WINKLER, M. H. et al. An integrative review of granular sludge for the biological removal of nutrients and recalcitrant organic matter from wastewater. **Chemical Engineering Journal**, v. 336, n. December 2017, p. 489-502, 2018.

YUANXIANG, F. A. N. G.; GOVIND, R. A new Thiele's modulus for the Monod biofilm model. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 16, n. 2, p. 277-286, 2008.

YUE, Z. et al. Component analysis and heavy metal adsorption ability of extracellular polymeric substances (EPS) from sulfate reducing bacteria. **Bioresource technology**, v. 194, p. 399-402, 2015.

ZAIAT, M. et al. Anaerobic sequencing batch reactors for wastewater treatment: a developing technology. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 55, n. 1, p. 29-35, 2001.

ZAIAT, M.; DOMINGUES, A.; FORESTI, E. External and internal mass transfer effects in an anaerobic fixed-bed reactor for wastewater treatment. **Process Biochemistry**, v. 35, n. 9, p. 943-949, 2000.

ZAIAT, M.; VIEIRA, L. G. T.; FORESTI, E. Intrinsic kinetic parameters of substrate utilization by immobilized anaerobic sludge. **Biotechnology and bioengineering**, v. 53, n. 2, p. 220-225, 1997.

ZHANG, M.; WANG, H. Preparation of immobilized sulfate reducing bacteria (SRB) granules for effective bioremediation of acid mine drainage and bacterial community analysis. **Minerals Engineering**, v. 92, p. 63-71, 2016.

ZHU, T.; XU, B.; WU, J. Experimental and mathematical simulation study on the effect of granule particle size distribution on partial nitrification in aerobic granular reactor. **Biochemical Engineering Journal**, v. 134, p. 22-29, 2018.

APÊNDICE A

Na tabela A.1 estão representados todos os valores encontrados do raio equivalente. Ao somar os valores da coluna do lado direito, é encontrado o valor de 268, número total da amostra. O ponto decimal é dois dígitos à esquerda da linha vertical, ou seja, 4|3 quer dizer 0,043cm.

Tabela A.1 - Diagrama de ramo e folha

4	3
5	26779
6	7
7	11269
8	133566679
9	13444788
10	0123448
11	23577888
12	2245677888
13	44588
14	000013455788
15	011344558899
16	00011348999
17	12234566778
18	00122234455677889
19	022334555666777788889999
20	002444555666777889
21	000111233333344588889
22	001123444455566677789
23	000012222334445677899
24	00011122223334455899
25	01123334459
26	3399
27	003
28	137