

KARL WAGNER ACERBI

**EFEITO DO PH, RELAÇÃO DQO/SULFATO E FONTE DE CARBONO NA  
BIORREMEDIAÇÃO DE DRENAGEM ÁCIDA DE MINAS SOB CONDIÇÕES  
ÁCIDAS EM REATOR UASB**

Poços de Caldas/MG

Julho de 2015

KARL WAGNER ACERBI

**EFEITO DO PH, RELAÇÃO DQO/SULFATO E FONTE DE CARBONO NA  
BIORREMEDIAÇÃO DE DRENAGEM ÁCIDA DE MINAS SOB CONDIÇÕES  
ÁCIDAS EM REATOR UASB**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: tratamento de águas residuárias. Orientador: Prof. Dr. Leonardo Henrique Soares Damasceno.

Poços de Caldas/MG

Julho de 2015.

A173e Acerbi, Karl Wagner.

Efeito do pH, relação DQO/Sulfato e fonte de carbono na  
biorremediação de drenagem ácida de minas sob condições ácidas  
em reator UÁSB / Karl Wagner Acerbi. – Poços de Caldas, 2015.  
128 f. -

Orientador: Leonardo Henrique Soares Damasceno.  
Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental) -  
Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2015.  
Bibliografia.

1. Aguas residuais. 2. Minas - Drenagem. 3. Biorremediação. I.  
Damasceno, Leonardo Henrique Soares. II. Título.

CDD: 628.1

**KARL WAGNER ACERBI**

**EFEITO DO PH, RELAÇÃO DQO/SULFATO E FONTE DE CARBONO  
NA BIORREMEDIAÇÃO DE DRENAGEM ÁCIDA DE MINAS SOB  
CONDIÇÕES ÁCIDAS EM REATOR UASB**

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 Julho de 2015.



Prof. Dr. Leonardo Henrique Soares Damasceno

Instituição: Universidade Federal de Alfenas



Profa. Dra. Renata Piacentini Rodriguez

Instituição: Universidade Federal de Alfenas



Instituição: Universidade Estadual de Campinas

*Aos meus pais*  
*Aos meus irmãos*  
*Aos meus amigos e familiares*  
**Dedico.**

*“E você não me faça passar vergonha!”*

Vô Wagner

## **AGRADECIMENTO**

Aos meus pais Klaus e Marcela (grandes exemplos da minha vida), por sempre me apoiar e me mostrar as coisas importantes, o valor do esforço, da dedicação, da humildade e do caráter acima de tudo. Aos meus irmãos Lenin e Yuri, e companheiros de república, que sei que sempre estiveram e estarão ao meu lado me ajudando no que for preciso. A toda minha família, pelos conselhos e palavras de incentivo.

Agradeço aos meus grandes amigos de graduação e companheiros de caminhada, em especial aos grandes Vascão, Marquinho e Dani, estamos sempre juntos irmãos! Aos meus irmãos de coração Lara e Bruno, obrigado por cada risada e conselho. Ao Pituco e Luciano que me acolheram no tempo de São Carlos e aos amigos do LPB que auxiliaram e tornaram os dias de análise mais prazerosos. Ao Daniel que me passou tudo que sabia sobre o experimento e estava sempre a disposição para me auxiliar.

Aos grandes técnicos, funcionários e professores (e amigos acima de tudo) da Unifal, em especial aos da Engenharia Ambiental, aprendi muita coisa com todos, dentro e principalmente fora da sala de aula. Só cheguei aqui devido a inspiração que me deram ao exercer seus trabalhos com tanto amor e dedicação. Ao meu orientador, e também amigo, Leonardo Henrique Soares Damasceno, obrigado por tudo! Ao Engenheiro Ambiental Claudio Júnior Araújo, companheiro e sempre disponível para me ajudar. Agradeço também à FAPEMIG pelo financiamento do projeto (Processo TEC-APQ-02154-11) e pela bolsa e a Avícola Dacar por ceder o lodo para inocular os reatores.

A todos que de alguma forma de ajudaram nessa empreitada, aos que estão ou estiveram presentes em minha vida, essa conquista é de todos nós.

## RESUMO

O presente trabalho consistiu em avaliar diferentes estratégias de operação de um reator UASB no tratamento de drenagem ácida de mina - DAM sintética. Foram testados dois reatores idênticos, sendo a operação deles diferenciada pela fonte de carbono, sendo etanol – RE e lactato – RL. As variações realizadas foram no pH afluente, alterando de 3,0 (fase I), para 3,5 (fase II) e 4,0 (fase III) e na relação DQO/Sulfato, sendo 2,0 nas três fases iniciais e reduzida por meio da DQO para 1,5 (fase IV) e 0,8 (fase V). Para RE a variação de pH não ocasionou variações significativas, sendo os valores médios das fases I, II e III: pH efluente 5,03, remoções de DQO 34% e de sulfato 88%, produções de sulfeto 122 mg/L, de alcalinidade 101 mg/L, ácido acético 127,7 mg/L e de H<sub>2</sub>S 1,5 mmol/L. Já a redução de DQO causou uma menor atividade das BRS em RE, sendo que a remoção média de sulfato foi de 87% (fase III) para 58% (fase V), produção de sulfeto de 119 para 55 mg/L, de alcalinidade 105 para 38 mg/L, de ácido acético de 116 para 73 mg/L e H<sub>2</sub>S de 1,2 E-03 para 4,1 E-04 mol/L. A remoção de DQO, no entanto, apresentou um aumento de 29 para 48%, indicando que o consumo de etanol passou a ser realizado por um outro grupo que não as BRS. Como o sistema era tamponado pelo ácido acético, não houve variações significativas no pH efluente nas últimas fases. Para RL as alterações tiveram efeito positivo ou indiferente estatisticamente, sendo que na fase I não havia atividade das BRS devido a prevalência da forma de ácido láctico em pH muito ácido. As alterações para as demais fases (II, III, IV e V), tiveram, respectivamente, as seguintes respostas médias: pH: 4,6, 6,44, 7,15 e 7,66; remoção de DQO: 19, 33, 46 e 54%; remoção de sulfato: 58, 70, 90 e 84%; produção de sulfeto: 67, 87, 127 e 124 ug/L; produção de alcalinidade: 101, 266, 287 e 225 mg/L; ácido acético: 55,7, 129,8, 137,7 e 34,1 mg/L. As concentrações de H<sub>2</sub>S sofrem influência do pH na determinação em sua fase de concentração, sendo medidas: 9,0E-04, 6,7E-03, 9,2E-04 e 8,9E-04, sendo que o “pulso”verificado na fase III foi devido ao pH.

**Palavras-chave:** Tratamento biológico. UASB. Drenagem ácida de mina. Conversão biológica de sulfato. Bactérias redutoras de sulfato.

## ABSTRACT

This work consisted in an evaluation of an UASB reactor treating synthetic acid mine drainage by different operation strategies. Two identical reactors were tested, wherein their operation were differentiated by the carbon source, using ethanol – RE and lactate – RL. The variations were: affluent pH, varying from 3.0 (phase I), to 3.5 (phase II) and 4.0 (phase III) and in the COD/Sulfate ratio, being 2.0 in the three initials phases and reduced by COD variation to 1.5 (phase IV) and 0.8 (phase V). For RE pH changes didn't cause big variations, wherein the average values of phases I, II and III are: effluent pH 5.03, COD removal 34%, sulfate removal 88%, production of sulfide 122 mg/L, alkalinity 101 mg/L, acetic acid 127.7 mg/L and H<sub>2</sub>S 1.5 E-03 mol/L. The COD reduction caused a lower SRB activity in RE, which average removal went from 87% (phase III) to 58% (phase V), production of sulfide from 119 to 55 mg/L, alkalinity from 105 to 38 mg/L, acetic acid from 116 to 73 mg/L and H<sub>2</sub>S from 1.2 E-03 to 4.1 E-04 mol/L. The COD removal, however, present a increase from 29 to 48%, indicating that another group, other than SRB, started to consumption ethanol. There was no significant variation of effluent pH on last phases because the system was buffered by acetic acid. For RL the modifications had a positive or neutral, statistically speaking, impact, since on phase I there was no SRB activity due prevalence of the lactic acid in very acid pH. The modifications to the other phases (II, III, IV and V), had, respectively, the following averages results: pH: 4.6, 6.44, 7.15 and 7.66; COD removal: 19, 33, 46 and 54%; sulfate removal: 58, 70, 90 and 84%; sulfide: 67, 87, 127 and 124 ug/L; alkalinity: 101, 266, 287 e 225 mg/L; acetic acid: 55.7, 129.8, 127.7 and 34.1 mg/L. The H<sub>2</sub>S concentrations are influenced by pH on the concentration form phase, being: 9.0 E-04, 6.7 E-03 and 8.9 E-04, in which the “pulse” observed in phase III was due to pH.

**Keywords:** Biological treatment. UASB. Acid mine drainage. Biological sulfate conversion. Sulfate-reducing bacteria.

## Lista de Figuras

Figura 1 - Equilíbrio entre $H_2S/HS^-/S^{2-}$ em solução aquosa em função do pH. ....	28
Figura 2 - Fluxograma do trabalho realizado. ....	30
Figura 3 - Representação dos reatores utilizados. ....	31
Figura 4 - Locais de amostragem dos parâmetros analisados. ....	34
Figura 5 - Valores de pH efluente verificados para RE nas fases I, II e III. ....	39
Figura 6 - Interferência do pH afluente no pH efluente em RE nas fases I, II e III – Box Plot. ....	41
Figura 7 - Valores de pH efluente medidos em RL nas fases I, II e III. ....	42
Figura 8 - Balanço entre ácido láctico e lactato em função do pH. ....	43
Figura 9 - Interferência do pH afluente no pH efluente em RL nas fases I, II e III – Box Plot. ....	44
Figura 10 - Valores de DQO medidos em RE nas fases I, II e III. ....	45
Figura 11 - Valores de DQO com e sem os ácidos orgânicos para RE nas fases I, II e III. ....	46
Figura 12 - Interferência do pH afluente na remoção de DQO em RE nas fases I, II e III – Box Plot. ....	47
Figura 13 – Valores de DQO medidos em RL nas fases I, II e III. ....	48
Figura 14 - Valores de DQO com e sem os ácidos orgânicos para RL nas fases I, II e III. ....	49
Figura 15 - Interferência do pH afluente na remoção de DQO em RL nas fases I, II e III – Box Plot. ....	50
Figura 16 - Valores de sulfato medidos em RE nas fases I, II e III. ....	51
Figura 17 - Interferência do pH na remoção de Sulfato em RE nas fases I, II e III – Box Plot. ....	52
Figura 18 - Valores de sulfato medidos em RL nas fases I, II e III. ....	53
Figura 19 - Influência do pH afluente na remoção de sulfato em RL nas fases I, II e III – Box Plot. ....	54
Figura 20 - Valores de sulfeto medidos em RE nas fases I, II e III. ....	55
Figura 21 - Interferência do pH na produção de Sulfeto em RE nas fases I, II e III – Box Plot. ....	56

Figura 22 - Valores de sulfeto medidos em RL nas fases I, II e III.....	57
Figura 23 - Influência do pH afluyente na produção de sulfeto em RL nas fases I, II e III – Box Plot.....	58
Figura 24 - Valores de alcalinidade medidos em RE nas fases I, II e III.....	59
Figura 25 - Interferência do pH na produção de alcalinidade em RE nas fases I, II e III – Box Plot.....	60
Figura 26 - Valores de alcalinidade medidos em RL nas fases I, II e III. ....	61
Figura 27 - Influência do pH afluyente na produção de alcalinidade em RL nas fases I, II e III – Box Plot.....	62
Figura 28 - Valores de ácidos voláteis medidos em RE nas fases I, II e III.....	63
Figura 29 - Interferência do pH na produção de ácidos voláteis em RE nas fases I, II e III – Box Plot.....	64
Figura 30 - Valores de ácidos voláteis medidos em RL nas fases I, II e III. ....	65
Figura 31 - Influência do pH afluyente na produção de ácidos voláteis em RL nas fases I, II e III – Box Plot.....	66
Figura 32 - Valores de ácidos orgânicos medidos em RE nas fases I, II e III. ....	67
Figura 33 - Influência do pH afluyente na formação de ácido acético em RE nas fases I, II e III – Box Plot. ....	68
Figura 34 - Valores de ácidos orgânicos medidos em RL nas fases I, II e III.....	69
Figura 35 - Influência do pH afluyente na produção de ácido acético em RL – Box Plot.....	70
Figura 36 - Valores de gases medidos em RE nas fases I, II e III. ....	71
Figura 37 - Concentrações dos gases CO <sub>2</sub> e H <sub>2</sub> S medidos em RE nas fases I, II e III.....	72
Figura 38 - Interferência do pH na produção de H <sub>2</sub> S em RE nas fases I, II e III – Box Plot. ....	73
Figura 39 - Valores de gases medidos em RL nas fases I, II e III.....	74
Figura 40 - Interferência do pH na produção de H <sub>2</sub> S em RL nas fases I, II e III – Box Plot. ....	75
Figura 41 - Porcentagens de remoção dos metais em RE nas fases I, II e III. ....	76
Figura 42 - Porcentagens de remoção dos metais em RL nas fases I, II e III.....	77
Figura 43 - Valores de pH medidos para RE nas fases III, IV e V. ....	79

Figura 44 - Interferência da relação DQO/Sulfato no pH efluente em RE nas fases III, IV e V – Box Plot. ....	80
Figura 45 - Valores de pH medidos em RL nas fases III, IV e V. ....	81
Figura 46 – Interferência da relação DQO/Sulfato no pH efluente em RL nas fases III, IV e V – Box Plot. ....	82
Figura 47 - Valores de DQO medidos para RE nas fases III, IV e V. ....	83
Figura 48 - Valores de DQO com e sem os ácidos orgânicos para RE nas fases III, IV e V. ....	84
Figura 49 - Interferência da relação DQO/Sulfato na remoção de DQO em RE nas fases III, IV e V – Box Plot.....	86
Figura 50 - Valores de DQO medidos para RL em fases III, IV e V.....	87
Figura 51 - Valores de DQO com e sem os ácidos orgânicos para RL.....	88
Figura 52 - Interferência da relação DQO/Sulfato na remoção de DQO em RL nas fases III, IV e V – Box Plot.....	89
Figura 53 - Valores de sulfato medidos em RE nas fases III, IV e V. ....	90
Figura 54 - Interferência da relação DQO/Sulfato na remoção de Sulfato em RE nas fases III, IV e V – Box Plot.....	91
Figura 55 - Valores de sulfato medidos em RL nas fases III, IV e V.....	92
Figura 56 - Influência da relação DQO/Sulfato na remoção de sulfato em RL nas fases III, IV e V – Box Plot. ....	93
Figura 57 - Valores de sulfeto medidos em RE nas fases III, IV e V. ....	94
Figura 58 - Interferência da relação DQO/Sulfato na produção de Sulfeto em RE nas fases III, IV, V – Box Plot. ....	95
Figura 59 - Valores de sulfeto medidos em RL nas fases III, IV e V.....	96
Figura 60 - Influência da relação DQO/Sulfato na produção de sulfeto em RL nas fases III, IV e V – Box Plot. ....	97
Figura 61 - Valores de alcalinidade medidos em RE nas fases III, IV e V.....	98
Figura 62 - Interferência da relação DQO/Sulfato na produção de alcalinidade em RE nas fases III, IV e V – Box Plot. ....	99
Figura 63 - Valores de alcalinidade medidos em RL nas fases III, IV e V. ....	100
Figura 64 - Influência da relação DQO/Sulfato na produção de alcalinidade em RL nas fases III, IV e V – Box Plot. ....	101

Figura 65 - Valores de ácidos voláteis medidos em RE nas fases III, IV e V.....	102
Figura 66 - Interferência da relação DQO/Sulfato na produção de ácidos voláteis em RE nas fases III, IV e V – Box Plot. ....	103
Figura 67 - Valores de ácidos voláteis medidos em RL nas fases III, IV e V. ....	104
Figura 68 - Influência da relação DQO/Sulfato na produção de ácidos voláteis em RL nas fases III, IV e V – Box Plot. ....	105
Figura 69 - Valores de ácidos orgânicos medidos em RE nas fases III, IV e V. ....	106
Figura 70 - Influência da relação DQO/Sulfato na formação de ácido acético em RE nas fases III, IV e V – Box Plot. ....	107
Figura 71 - Valores de ácidos orgânicos medidos em RL nas fases III, IV e V. ....	108
Figura 72 - Influência da relação DQO/Sulfato na produção de ácido acético em RL nas fases III, IV e V – Box Plot. ....	109
Figura 73 - Valores de gases medidos em RE nas fases III, IV e V. ....	110
Figura 74 - Interferência da relação DQO/Sulfato na produção de H <sub>2</sub> S em RE nas fases III, IV e V – Box Plot.....	111
Figura 75 - Valores de gases medidos em RL nas fases III, IV e V.....	112
Figura 76 - Interferência da relação DQO/Sulfato na produção de H <sub>2</sub> S em RL nas fases III, IV e V – Box Plot.....	113
Figura 77 - Porcentagens de remoção dos metais nas fases III, IV e V. ....	114
Figura 78 - Porcentagens de remoção dos metais em RL nas fases III, IV e V.....	115
Figura 79 – Resultado do DGGE para RE. ....	119
Figura 80 – Resultados de DGGE para RL.....	120

## Lista de Tabelas

Tabela 1 - Etanol e lactato como doadores de elétrons na conversão de sulfato. ....	26
Tabela 2 - Características da operação de reatores UASB. ....	28
Tabela 3 - Fases de operação. ....	32
Tabela 4 - Formas e concentrações dos nutrientes, sulfato e metais na alimentação. ....	32
Tabela 5 - Formas e concentrações das fontes de carbono utilizadas. ....	33
Tabela 6 - Análises realizadas e suas frequências. ....	34
Tabela 7 - Valores de pH efluente médio e desvios padrão em RE. ....	40
Tabela 8 - Valores de pH efluente médio e desvios padrão. ....	42
Tabela 9 - Valores de remoção de DQO e seus desvios. ....	45
Tabela 10- Valores de DQO com e sem os ácidos em RE. ....	47
Tabela 11 - Valores de remoção de DQO e seus desvios. ....	48
Tabela 12 - Valores de DQO com e sem os ácidos em RE. ....	49
Tabela 13 - Valores de remoção de Sulfato e seus desvios. ....	51
Tabela 14 - Valores de remoção de Sulfato e seus desvios. ....	53
Tabela 15 - Valores de Sulfato e seus desvios. ....	55
Tabela 16 - Valores de Sulfato e seus desvios. ....	57
Tabela 17 - Valores de alcalinidade e seus desvios. ....	59
Tabela 18 - Valores de alcalinidade e seus desvios. ....	61
Tabela 19 - Valores de ácidos voláteis medidos em RE. ....	63
Tabela 20 - Valores de ácidos voláteis e seus desvios. ....	65
Tabela 21 - Valores de ácidos orgânicos e seus desvios. ....	67
Tabela 22 - Valores de ácidos orgânicos e seus desvios. ....	69
Tabela 23 - Valores médios dos gases e seus desvios. ....	71
Tabela 24 - Valores médios dos gases e seus desvios. ....	74
Tabela 25 - Valores médios de remoção de metais e seus desvios. ....	76
Tabela 26 - remoções médias de Fe, Cu e Zn e seus desvios. ....	77
Tabela 27 - Variações no pH e seus efeitos em RE e RL entre as fases I e III. ....	78
Tabela 28 - Valores de pH efluente médio e desvios padrão. ....	80
Tabela 29 - Valores de pH efluente médio e desvios padrão. ....	82
Tabela 30 - Valores de remoção de DQO e seus desvios. ....	84
Tabela 31 - Valores de DQO com e sem os ácidos em RE. ....	85
Tabela 32 - Valores de remoção de DQO e seus desvios. ....	88
Tabela 33 - Valores de DQO com e sem os ácidos em RE. ....	89
Tabela 34 - Valores de remoção de Sulfato e seus desvios. ....	91
Tabela 35 - Valores de remoção de Sulfato e seus desvios. ....	93
Tabela 36 - Valores de Sulfato e seus desvios. ....	95
Tabela 37 - Valores de sulfato medidos em RL nas fases III, IV e V. ....	96
Tabela 38 - Valores de alcalinidade e seus desvios. ....	98
Tabela 39 - Valores de alcalinidade e seus desvios. ....	100
Tabela 40 - Valores de ácidos voláteis medidos em RE. ....	102
Tabela 41 - Valores de ácidos voláteis e seus desvios. ....	104
Tabela 42 - Valores de ácidos orgânicos e seus desvios. ....	106
Tabela 43 - Valores de ácidos orgânicos e seus desvios. ....	108
Tabela 44 - Valores médios dos gases e seus desvios. ....	110
Tabela 45 - Valores médios dos gases e seus desvios. ....	112
Tabela 46 - Valores médios de remoção de metais e seus desvios. ....	114
Tabela 47 - remoções médias de Fe, Cu e Zn e seus desvios. ....	115
Tabela 48 - Variações da relação DQO/Sulfato e seus efeitos em RE e RL entre as fases III e V. ....	116
Tabela 49 - Comparação entre RE e RL nas diferentes fases. ....	117

Tabela 50 – Amostras correspondentes ao DGGE. ....	118
--	-----

## Sumário

<b>1</b>	<b>Introdução</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>Objetivos</b>	<b>17</b>
<b>3</b>	<b>Revisão bibliográfica</b>	<b>18</b>
3.1	<i>Drenagem ácida de minas</i>	18
3.2	<i>Métodos utilizados para o tratamento de DAM</i>	21
3.2.1	Tratamento ativo	21
<b>3.2.2</b>	<b>Tratamento passivo</b>	<b>22</b>
3.3	Atuação das BRS e precipitação de metais em processos anaeróbios	23
3.4	Tratamento de DAM em um reator UASB sulfetogênico	27
3.5	Considerações relevantes	29
<b>4</b>	<b>Material e métodos</b>	<b>30</b>
4.1	<i>Reatores</i>	30
4.2	<i>Inóculo</i>	31
4.3	<i>Fases de operação</i>	32
4.4	<i>Preparo do meio</i>	32
4.5	<i>Monitoramento</i>	34
4.5.1	Demanda química de oxigênio	35
4.5.2	Sulfato	35
4.5.3	Sulfeto dissolvido	36
4.5.4	Alcalinidade e ácidos voláteis	36
4.5.5	pH	36
4.5.6	Ácidos orgânicos	37
4.5.7	Metais (Fe, Cu, Zn)	37
4.5.8	Gases (N, CH <sub>4</sub> , CO <sub>2</sub> e H <sub>2</sub> )	38
4.6	<i>Biologia molecular</i>	38
4.7	<i>Métodos estatísticos</i>	38
<b>5</b>	<b>Resultados e discussões</b>	<b>39</b>
5.1	<i>Efeito do pH</i>	39
5.1.1	pH efluente em RE e RL	39
5.1.2	DQO em RE e RL	44
5.1.3	Sulfato em RE e RL	51
5.1.4	Sulfeto em RE e RL	55
5.1.5	Alcalinidade em RE e RL	58

5.1.6	Ácidos voláteis em RE e RL.....	62
5.1.7	Ácidos orgânicos em RE e RL .....	66
5.1.8	Produção de gases em RE e RL.....	71
5.1.9	Remoção de metais em RE e RL.....	75
5.1.10	Considerações sobre a influencia do pH em RE e RL.....	78
5.2	<i>Efeito da relação DQO/Sulfato .....</i>	79
5.2.1	pH efluente em RE e RL .....	79
5.2.2	DQO em RE e RL .....	83
5.2.3	Sulfato em RE e RL .....	90
5.2.4	Sulfeto em RE e RL .....	94
5.2.5	Alcalinidade em RE e RL .....	98
5.2.6	Ácidos voláteis em RE e RL.....	101
5.2.7	Ácidos orgânicos em RE e RL .....	105
5.2.8	Gases em RE e RL .....	109
5.2.9	Metais em RE e RL.....	113
5.2.10	Considerações sobre a influência da relação DQO/Sulfato em RE e RL.....	116
5.3	<i>Comparação entre RE e RL nas diferentes fases.....</i>	117
5.4	<i>Biologia molecular.....</i>	118
<b>6</b>	<b>Conclusões .....</b>	<b>122</b>
6.1	<i>Fases de RE.....</i>	122
6.2	<i>Fases de RL.....</i>	122
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>124</b>

## 1 Introdução

A atividade minerária ocupa posição importante no cenário industrial brasileiro, com números cada vez mais representativos na economia nacional e enormes áreas mineradas.

O setor de mineração tem conhecidamente um grande potencial de impacto ao meio ambiente devido à grande escala envolvida nessa atividade. Exemplos clássicos são grandes escavações, descolamentos de terra, produção de ruído e material particulado. Dentre os grandes problemas ambientais relacionados diretamente a esse ramo industrial está a produção da drenagem ácida de minas (DAM).

A DAM é gerada por meio da exposição de grandes quantidades de materiais sulfetados, usualmente a pirita, à atmosfera e águas pluviais. Isso ocorrendo, se dá a oxidação desse material e ocasiona a formação de soluções ácidas, sulfatadas e, como as áreas mineradas apresentam diferentes minerais, ricas em metais.

Usualmente o procedimento adotado para mitigar esse impacto é a adição de compostos químicos alcalinos, como a cal virgem, para promover a neutralização do meio por meio da elevação do pH e, conseqüentemente, a precipitação dos metais em solução, sendo que esse pode ser retirado do meio na forma de hidróxidos. No entanto, esse processo envolve elevados custos devido a grande quantidade de agentes químicos demandada, além de não ser tão efetivo devido a instabilidade do material precipitado.

Uma das alternativas que vem sendo amplamente estudada e testada é o tratamento da DAM por via biológica, mais especificamente por meio das bactérias redutoras de sulfato (BRS) em reatores anaeróbios de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB). Para favorecer a ação das BRS para elevar o pH e lixiviar os metais, é necessário o estabelecimento de parâmetros operacionais, como o pH afluente, a relação entre a concentração de doador de elétrons e de sulfato e a fonte de carbono. O tratamento sob condições ácidas influi diretamente nos custos da remediação, motivo este que torna relevante estudos nestas condições. Ademais, além do impacto econômico, a fonte de carbono exerce importante papel no desempenho técnico do processo.

Assim sendo, no contexto apresentado, o presente trabalho avaliou o emprego de reatores UASB expostos a diferentes fontes externas de carbono, pH inicial e relação DQO/sulfato, para se verificar quais as consequências dessa estratégias de operação no tratamento de uma DAM sintética.

## 2 Objetivos

O presente trabalho teve como seu principal objetivo avaliar o desempenho do tratamento biológico de DAM sintética por reatores UASB pela ação das BRS submetidos a diferentes estratégias de operação. Para tanto, tem-se os seguintes objetivos específicos:

- I. Verificar e quantificar a influência da fonte de carbono, no caso etanol e lactato, na remoção de sulfato, DQO e metais de DAM sintética e elevação de seu pH através da produção de alcalinidade;
- II. Verificar e quantificar a influência do pH afluente e da relação DQO/Sulfato no tratamento de uma DAM sintética;
- III. Comparar o desempenho dos reatores em cada fase e definir o mais vantajoso para cada condição testada;
- IV. Avaliar a alteração dos microrganismos ativos nas diferentes fases testadas.

### 3 Revisão bibliográfica

#### 3.1 Drenagem ácida de minas

A geração de drenagem ácida de minas (DAM) se dá na extração de diferentes minérios, sendo que os que apresentam maior produção de DAM nesse processo são o ouro, carvão, cobre, urânio e zinco, devido a incidência de metais sulfetados nos locais de lavra. Visto isso, pode-se se dizer que esse é um problema encontrado em diferentes regiões do Brasil, muitas vezes em escalas enormes, em decorrência do grande número e tamanho de lavras desses minérios (MELLO et al., 2003).

A formação de DAM se dá principalmente pela exposição de compostos sulfetados à atmosfera e a água de chuva por meio do acúmulo dos rejeitos contendo esses materiais, em pilhas, os chamados bota-foras. Em decorrência da interação desse material com a água e oxigênio, ocorre a oxidação dos compostos e a formação de uma solução ácida e rica em sulfato e, conseqüentemente, ácido sulfúrico, acarretando na solubilização dos metais presentes na pilha, rocha e solo (MELLO et al., 2003; SILVAS, 2010).

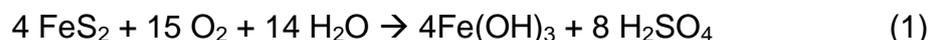
Assim sendo, esse efluente se caracteriza por seu baixo pH, geralmente abaixo de 3,0, alta condutividade específica e grande concentração de sulfato e metais pesados como Fe, Cu, Mn e Zn. Devido a essas características, esse efluente ocasiona a deterioração de águas superficiais e subterrâneas, solos e sedimentos de cursos de água, podendo apresentar efeitos toxicológicos aos ecossistemas expostos, como o aumento da mortalidade ou da incidência de deformações (SILVAS, 2010).

Mesmo sabendo dos riscos associados à DAM, não existe uma delimitação clara do potencial poluidor padrão de uma atividade mineradora em termos de drenagem ácida pelo fato de que cada sítio de mineração gera um efluente específico, resultante das características geológicas do local e dos métodos empregados na exploração mineral. Tem-se, no entanto, que usualmente o potencial de impacto ambiental associado a esse efluente é de moderado a severo, independente de seu pH (AKCIL; KOLDAS, 2006).

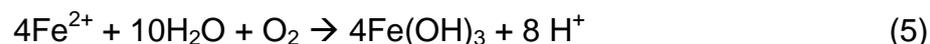
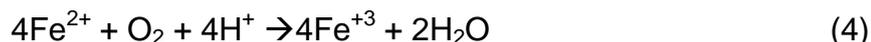
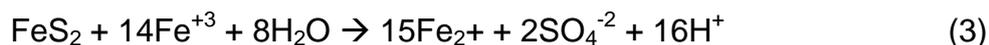
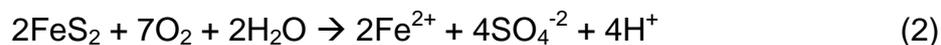
Os materiais mais comumente oxidados para a formação de DAM são a pirita ( $\text{FeS}_2$ ), arsenopirita ( $\text{FeAsS}$ ), calcopirita ( $\text{CuFeS}_2$ ) e calcocita ( $\text{Cu}_2\text{S}$ ), sendo o primeiro citado o mais comum (CAMPANER; SILVA, 2009; SHEORAN et al., 2010). Segundo Silvas (2010), a ocorrência da DAM está, usualmente, associada a três premissas, sendo:

- I. O material deve apresentar uma concentração de sulfetos superior a dos álcalis presentes no meio;
- II. A granulometria do resíduo deve propiciar, por meio de porosidade, condições para infiltração de água e oxigênio;
- III. O resíduo deve estar em ambiente úmido ou exposto à água de chuva ou cursos de água circundantes.

A fim de se entender as reações envolvidas no processo de formação desse efluente, se pode tomar como exemplo, por ser a mais usualmente verificada, a formação de DAM a partir da pirita e sua oxidação através da interação com o  $\text{O}_2$ . Kontopoulos (1998), apresenta, de maneira simplificada, essa interação através da equação 1.



Além da reação apresentada pela equação 1, a oxidação da pirita pode ser analisada a partir de reações intermediárias envolvendo processos químicos e biológicos. As reações que envolvem esses estágios estão apresentadas pelas equações 2, 3, 4 e 5 (FOSSATTI et al., 2011).



Sendo que as equações 2 e 3 apresentam respectivamente oxidações direta e indireta, a equação 4 a oxidação do  $\text{Fe}^{2+}$  e a 5 a formação do precipitado  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ .

A reação 4 é considerada a limitante desse processo por sua baixa velocidade de reação em ambientes abióticos, no entanto, existem grupos bacterianos que podem atuar como catalisadores da reação por meio da oxidação do ferro e de compostos que apresentam enxofre (GLEISNER, 2006). É importante frisar ainda que as reações de oxidação de íons de ferro sofrem influência do pH, sendo que, em ambientes ácidos, ocorre o deslocamento do equilíbrio para formação do íon ferro (ASSIS, 2006 ; SILVA et al.,2011).

Diversos fatores estão associados à formação de ácidos nesse efluente do sítio de mineração, sendo que os principais deles são (AKCIL; KOLDAS, 2006):

- I. pH;
- II. Temperatura;
- III. Teor de O<sub>2</sub> da fase gasosa;
- IV. Concentração de O<sub>2</sub> na fase aquosa;
- V. Grau de saturação com água;
- VI. Atividade química de Fe<sup>3+</sup>;
- VII. Área de superfície de material sulfetado exposto;
- VIII. Energia de ativação química necessária para iniciar a geração de ácido;
- IX. Permeabilidade da pilha de rejeito;
- X. Atividade bacteriana local.

É importante salientar que a influência da atividade bacteriana nesse caso varia com as condições ambientais do meio, sendo que essa pode ser tanto majoritária quanto desprezível, dependendo das condições que afetem sua atividade e, conseqüentemente, ocasionem interferência na formação de ácidos (AKCIL; KOLDAS, 2006).

Por meio do que foi exposto até então se pode verificar a relevância e severidade dos impactos causados pela DAM no solo e recursos hídricos, afetando diferentes ambientes superficiais e subsuperficiais. Observou-se ainda a dificuldade da realização de uma caracterização padrão desse efluente devido a heterogeneidade relacionada as condições ambientais e as características da exploração mineral.

### 3.2 Métodos utilizados para o tratamento de DAM

Ao longo dos anos com o aumento do setor de exploração mineral e, conseqüentemente, da geração de DAM, tem se desenvolvido diversas maneiras de se tratar esse efluente. A escolha do método utilizado depende principalmente do volume gerado e o tipo e concentração dos contaminantes presentes.

Um método é considerado efetivo se o mesmo fornecer um efluente com pH próximo do neutro, baixa acidez e com concentrações de sulfato e metais dentro dos limites apresentados nas leis ambientais. Porém, além do fator técnico, o econômico e operacional são peças fundamentais no momento da escolha do processo de tratamento, sendo assim, o mesmo deve apresentar baixo custos, facilidades de instalação e operação e produzir baixas quantidades de subprodutos sólidos (GAZEA; ADAM; KONTOPOULOS, 1995).

O tratamento de drenagem ácida de minas pode ser dividido em duas grandes áreas (SILVAS, 2010):

- I. Ativo: adição mecânica de compostos alcalinos a fim de se elevar o pH da solução e precipitar os metais ali presentes;
- II. Passivo: se baseia em reações naturais, químicas e biológicas, ocorrendo em um ambiente controlado, como um reator químico-biológico.

#### 3.2.1 Tratamento ativo

Historicamente, tratamentos ativos, em particular a adição de cal ou similares, foram e ainda são os mais utilizados pelas mineradoras para tratar seu efluente. Com a adição desses compostos, ocorre a formação de hidróxidos dos metais presentes na DAM, precipitando-os, e o aumento do pH através da geração de alcalinidade (JOHNSON; HALLBERG, 2005).

Porém, tem-se atualmente grande interesse por parte das empresas do setor mineral em utilizar novas técnicas, devido, além do fator econômico envolvido na compra de enormes quantidades de compostos álcalis, a volumosa produção de lodo, que demanda, segundo a NBR 10004/04, sua disposição em aterro sanitário com preparo para receber resíduos não inertes (Classe A) (SILVAS, 2010; JOHNSON; HALLBERG, 2005).

Além das já citadas dificuldades envolvendo sistemas ativos, tipicamente esse tipo de tratamento exige a implantação de uma infraestrutura contendo elementos como agitadores, precipitadores, clarificadores e espessantes, encarecendo assim o processo. Pode-se dizer então que esse tipo de processo não pode ser considerado muito efetivo ou atrativo do ponto de vista ambiental, técnico ou econômico (GAZEA, ADAM; KONTOPOULOS, 1995).

Devido aos problemas enfrentados com relação aos sistemas ativos, tem-se cada vez mais verificado o incentivo ao desenvolvimento e utilização de sistemas de tratamento do tipo passivo.

### 3.2.2 Tratamento passivo

Existem diversos processos de tratamento ditos como passivos, fazendo uso de diferentes compostos, configurações e microrganismos, contendo assim processos físicos, químicos e biológicos. Esse tipo de tratamento leva vantagem sobre os ativos devido a boa qualidade do efluente gerado mesmo sem a necessidade de intervenções constantes e elevados custos de manutenção (GAZEA, ADAM; KONTOPOULOS, 1995). Vale lembrar que esses parâmetros variam muito de acordo com o volume e característica do efluente a ser tratado e o tipo de tratamento passivo selecionado.

Os principais processos envolvidos em sistemas do tipo passivo são (TRINDADE; SOARES, 2004):

- I. Sedimentação;
- II. Filtração;
- III. Transferência gasosa;

- IV. Adsorção;
- V. Troca iônica;
- VI. Precipitação química;
- VII. Hidrólise;
- VIII. Reações de oxidação e redução;
- IX. Reações de degradação e conversão biológica;
- X. Fotossíntese, foto oxidação, adsorção pela vegetação.

Dentre os tratamentos passivos, merece destaque por sua robustez, eficiência e facilidade de operação o tratamento biológico desse efluente em reatores bioquímicos anaeróbios (JOHNSON; HALLBERG, 2005).

Existem diferentes tratamentos biológicos que podem ser empregados no tratamento de DAM e dentre eles o que se mostra mais promissor é a redução biológica do sulfato através da atuação das bactérias redutoras de sulfato (BRS). Esse potencial se deve ao fato desse processo envolver a redução simultânea do sulfato e dos metais em solução e da elevação do pH desse efluente (RODRIGUEZ et al., 2012). Uma das configurações de reatores que podem explorar a atuação das BRS é o reator anaeróbio de fluxo ascendente com manta de lodo, conhecido como reator UASB (*Upflow anaerobic sludge blanket*).

### 3.3 Atuação das BRS e precipitação de metais em processos anaeróbios

Os microrganismos são parte fundamental das transformações do enxofre através da utilização de compostos contendo esse elemento em fases de seu metabolismo. Isso ocorre através de diversas reações de oxidação e redução, como, por exemplo, a redução de sulfato pelas BRS (MUYZER, 2008). Nesse caso, o sulfato é utilizado pelas bactérias como acceptor final de elétrons no processo de decomposição anaeróbia de matéria orgânica, utilizando a mesma como doador de elétrons (CHERNICHARO, 2007).

Devido às características envolvidas em seu metabolismo, as BRS são elemento importante tanto no ciclo do enxofre quanto no do carbono, sendo

sua atuação fundamental para o tratamento de DAM em reatores anaeróbios sulfetogênicos (MUYZER, 2008).

A transformação do sulfato pelas BRS se dá tanto pela assimilação do mesmo pelos microrganismos como por sua conversão a sulfeto, principalmente em sua forma hidrolisada, H<sub>2</sub>S (POSTGATE, 1984). A conversão dos íons sulfato à sulfeto se dá por meio da equação 6 (PAGNANELLI et al.,2012).



Sendo que CH<sub>2</sub>O é uma representação geral de matéria orgânica. Com relação à equação 5, é importante salientar a geração de bicarbonato (HCO<sub>3</sub>), gerando assim alcalinidade no meio e elevando o pH do efluente. Em decorrência da formação de sulfeto verificada na equação 6, tem-se a reação do mesmo com os metais presentes na solução de modo a formar sais de sulfeto poucos solúveis, resultando na precipitação desses elementos segundo a equação 7 (PAGNANELLI et al.,2012).



Em que Me representa um elemento metálico presente no meio e MeS o sal formado na interação desse com o sulfeto. O composto MeS, produto da equação 6, por ser pouco solúvel, precipita, removendo assim os metais presentes na solução (MUYZER, 2008).

Além de prover o sulfeto para a formação dos sulfetos metálicos e sua consequente remoção por precipitação, acredita-se que as BRS desempenham outro importante papel nesse processo. Através de um polímero extracelular, essas bactérias disponibilizam sítios aniônicos que permitem a ligação dos íons metálicos, fixando os mesmos na parte sólida, facilitando e acelerando a remoção desses da solução (JALALI; BALDWIN, 1999).

Nesse processos podem ser destacados dois grandes grupos de BRS, sendo (COLLERAN et al.,1995; CHERNICHARO, 2007):

- I. oxidadoras incompletas, que oxidam o substrato até o acetato, como as espécies do gênero *Desulfobulbus sp.*, *Desulfomonas sp.*, e a maioria das espécies do gênero *Desulfotomaculum*, que incluem as *Desulfovibrio*;
- II. oxidadoras completas que oxidam o substrato até gás carbônico, como as espécies dos gêneros *Desulfobacter*, *Desulfococcus*, *Desulfosarcina* e *Desulfobacterium*.

Existem diversos compostos que podem ser utilizados como doadores de elétrons para a atuação das BRS, sendo os exemplos mais comuns o etanol, lactato, piruvato, malato, acetato e propionato (LENS et al., 1998).

Os principais fatores que definem o doador final de elétrons que será utilizado preferencialmente no caso da presença de mais de um deles, é a energia livre da reação e a capacidade dos microrganismos ali presentes de utilizar esses compostos em seu metabolismo (COLLERAN et al., 1995). Gómez (2013) apresenta uma série de critérios para a seleção do doador de elétrons a ser utilizado em reatores sulfetogênicos, sendo esses:

- I. A habilidade das BRS em utilizar o composto como substrato;
- II. A carga de Sulfato a ser reduzida e o custo do substrato por unidade de sulfeto produzido;
- III. A disponibilidade do substrato em quantidade suficiente;
- IV. A poluição gerada em casos de degradação incompleta desse composto.

Dentre os diferentes doadores de elétrons, serão detalhados, por questões de interesse no presente trabalho, o etanol e o lactato. Com relação a energia livre de Gibbs de referência resultante da redução de sulfato na presença desses dois doadores de elétrons, se tem um valor de -132,7 KJ/mol para o etanol e -159,6 KJ/mol para o lactato, sendo que ambas acontecem espontaneamente (LIAMLEAM; ANNACHHATRE, 2007).

Em levantamento realizado por HAO et al. (2014), foram elencadas vantagens e desvantagens de alguns doadores de elétrons normalmente

utilizados na conversão de sulfato. Os apontamentos sobre etanol e lactato apresentados estão presentes na Tabela 1.

Tabela 1 - Etanol e lactato como doadores de elétrons na conversão de sulfato.

Doador	Vantagem	Desvantagem
Etanol	Mais barato Convertido facilmente pelas BRS	Menor crescimento de biomassa Conversão incompleta para acetato (aumento da DQO efluente)
Lactato	Convertido por uma grande variedade de BRS Grande geração de alcalinidade Menos suscetível a toxicidade Fonte de carbono preferencial para as BRS	Maior custo

Fonte: Adaptado de HAO et al., 2014.

### 3.3.1 Favorecimento das BRS em um tratamento anaeróbio

Em casos onde se deseja priorizar a sulfetogenese em um reator, é necessário que se observe as condições de operação desse sistema, uma vez que as características do afluente e as condições ambientais são fundamentais para determinar qual grupo de microrganismos irá prevalecer no processo. Comumente tem-se em reatores anaeróbios uma grande competição entre as arqueias metanogênicas e as BRS (COUTO, 2014; LENS et al., 1998).

Dois dos principais fatores determinantes para o favorecimento das BRS em detrimento as arqueias metanogênicas são o pH afluente e a relação entre DQO e Sulfato, sendo que em pH abaixo de 5,5 tem-se a inibição das dessas arqueias e em relações  $DQO/SO_4^{-2}$  iguais ou inferiores a 2,0 determinam o predomínio das BRS (ISA et al., 1986), sendo a relação de 0,67 a proporção estequiométrica de oxidação completa da matéria orgânica na presença de sulfato (LENS et al., 1998).

Segundo Colleran, Finnegan e Lens (1994), a relação DQO/Sulfato é o principal fator na determinação da rota sulfetogênica ou metanogênicas no sistema, sendo que estudos mais recentes indicam que, em casos de

predomínio de oxidadoras incompletas, a relação próxima a 2,0 tem sido considerada como ótima, verificando-se elevada remoção de sulfato (BARBOSA, 2009).

### 3.4 Tratamento de DAM em um reator UASB sulfetogênico

Dentre os tratamentos passivos possíveis no tratamento de DAM, a utilização de biorreatores se mostra como uma alternativa vantajosa em diferentes aspectos. Apesar de apresentar maiores valores para a implantação e de sua operação exigir maior conhecimento técnico em relação ao método ativo, essa solução apresenta alta eficiência nas remoções de sulfato e metais, grande geração de alcalinidade e maior facilidade de recuperação dos metais removidos (FORESTI et al., 2006; RODRIGUEZ et al., 2012).

Se tratando de reatores sulfetogênicos tratando DAM os resultados na remoção de sulfato se apresentam muito bons, sendo verificadas remoções próximas ou até mesmo superiores a 90% em diversos trabalhos de pesquisa (ARCHILHA et al., 2010; BERTOLINO et al., 2011; DAMIANOVIC; FORESTI, 2007; KIM, et al., 2013; RODRIGUEZ et al., 2012).

Diversas configurações de reatores foram e vem sendo testadas no tratamento sulfetogênico de DAM, sendo que os reatores do tipo UASB se apresentam como uma das alternativas mais promissoras devido a sua simplicidade, volume requerido reduzido devido à retenção de biomassa, suas facilidades operacionais e maior robustez do sistema quanto a toxicidades devido ao crescimento agregado (BERTOLINO et al., 2011; KOSCHORRECK, 2008; RODRIGUEZ et al., 2012).

Kaksonen e Puhakka (2007) apresentaram um comparativo entre diversas configurações de reatores indicando suas vantagens e desvantagens, sendo os que os apontamentos feitos para os reatores UASB, em uma situação geral, estão apresentados pela Tabela 2.

Tabela 2 - Características da operação de reatores UASB.

---

 Vantagens (+) e desvantagens (-) de reatores UASB
 

---

- (+) Sem formação de caminho preferencial
  - (+) Sem compactação do meio
  - (+) Baixo custo relacionado a biomassa
  - (+) Sem entupimentos
  - (+) Elevadas taxas de remoção
  - (-) Perda de biomassa em problemas no processo
  - (-) Mais suscetível às mudanças na qualidade do efluente comparado com o filtro anaeróbio
- 

Fonte: Adaptado de KAKSONEN e PUHAKKA, 2007.

Por todas essas razões, o tratamento desse efluente em reatores UASB vem sendo amplamente estudados, tendo-se testadas diferentes estratégias de operação, variando-se o doador de elétrons utilizado, o pH de entrada do reator e a relação DQO/Sulfato adotada.

Dentre os principais fatores a serem considerados e controlados na biorremediação de DAM é o pH afluente ao reator, uma vez que em valores baixos de pH tem-se o aumento da toxicidade do sistema devido a ocorrência da forma não dissociada do sulfeto (Figura 1), sua forma mais nociva as bactérias, e de ácidos orgânicos não dissociados, podendo assim inibir a atuação das BRS e metanogênicas (GÓMEZ, 2013).

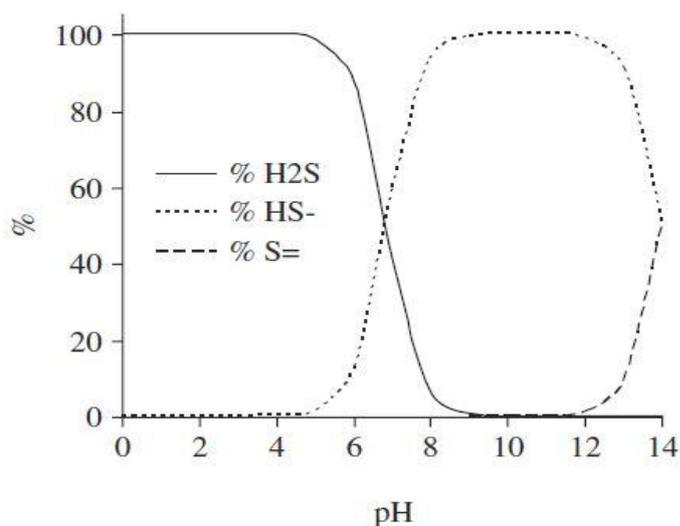


Figura 1 - Equilíbrio entre H<sub>2</sub>S/HS<sup>-</sup>/S<sup>2-</sup> em solução aquosa em função do pH.

Fonte: CERVANTES, PAVLOSTATHIS e HAANDEL, 2006.

A inibição devido ao  $H_2S$ , que é verificada em maior proporção em pH ácidos, em muitas bactérias envolvidas em digestão anaeróbia é comum, resultando assim na redução de eficiência desses reatores. A razão pela qual a forma não dissociada é a mais prejudicial é que somente ela é capaz de permear na membrana celular, afetando assim seu metabolismo. Assim sendo, muitos estudos indicam que há uma grande redução da remoção de sulfato em casos onde o pH afluente é inferior a 6,2 (GÓMEZ, 2013).

No entanto, o estudo feito por ISA et al. (1986), demonstrou que as BRS não sofrem grande influência de concentrações de  $H_2S$ , sendo que esse tipo de inibição é mais comumente observada em arqueias metanogênicas.

Além das inibições já citadas, existem casos de inibição das BRS devido a elevadas concentrações de metais pesados por desativação de enzimas e desnaturação de algumas proteínas. Tanto o efeito quanto a intensidade da influência dos metais no metabolismo nas bactérias está relacionada a suas concentrações, podendo prejudicar o crescimento celular, a remoção de sulfato e até mesmo a morte dos organismos.

Apesar disso, esse tipo de inibição não é tão comum devido a grande velocidade envolvida na formação de sulfetos metálicos e, conseqüentemente, na precipitação desses metais (COLLERAN; FINNEGANS; LENS, 1994; ISA et al., 1986; GÓMEZ, 2013,).

### 3.5 *Considerações relevantes*

Considerando o apresentado, tem-se a importância do entendimento do processo no tratamento de DAM por meio da redução de sulfato e de estudos visando estabelecer critérios de seleção de estratégias de operação, promovendo assim cenários mais favoráveis para o emprego em escala industrial.

## 4 Material e métodos

### 4.1 Reatores

Foi realizada a operação de dois reatores do tipo UASB em escala de bancada, alimentados com diferentes fontes de carbono, a saber: etanol, denominado RE, e lactado, denominado RL. O fluxograma apresentado na Figura 2 representa um resumo trabalho realizado.

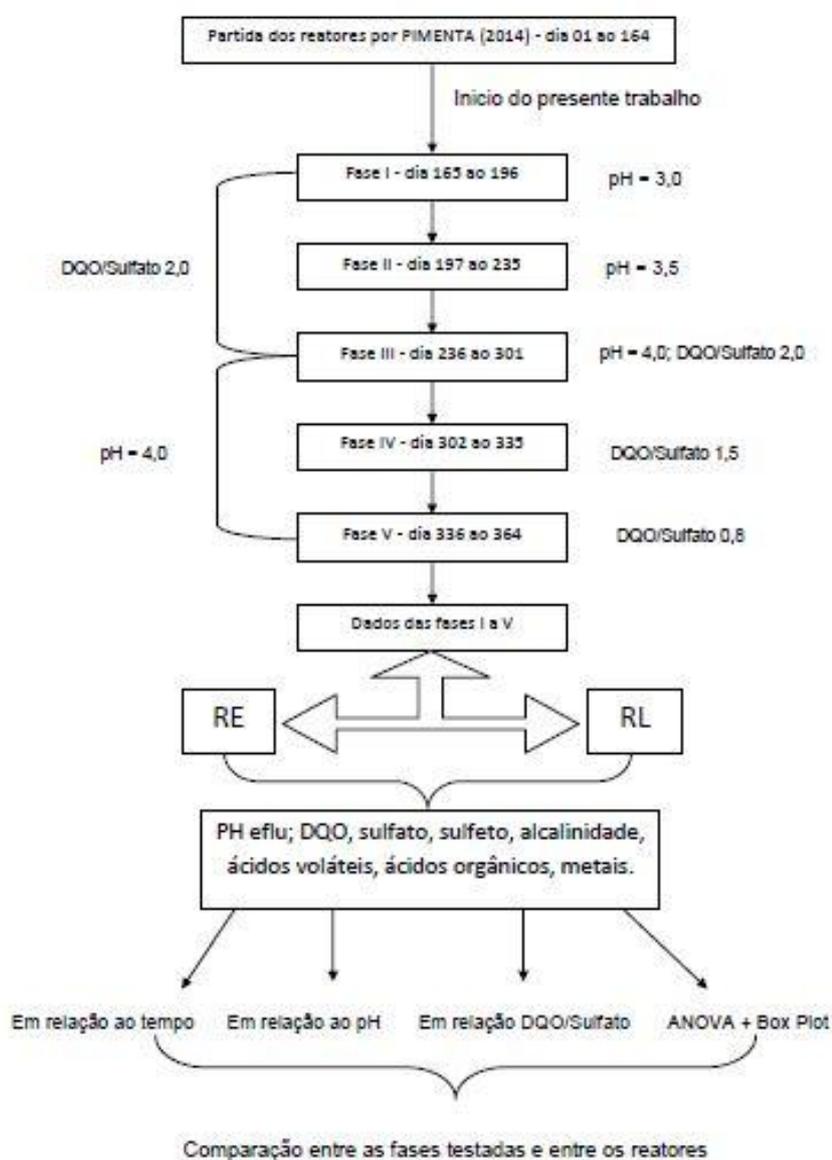


Figura 2 - Fluxograma do trabalho realizado.

Fonte: produção do próprio autor.

Os reatores são idênticos do ponto de vista de construção, sendo feitos de acrílico e podendo ser representados por meio da Figura 3. Na mesma figura está apresentada uma imagem dos reatores.

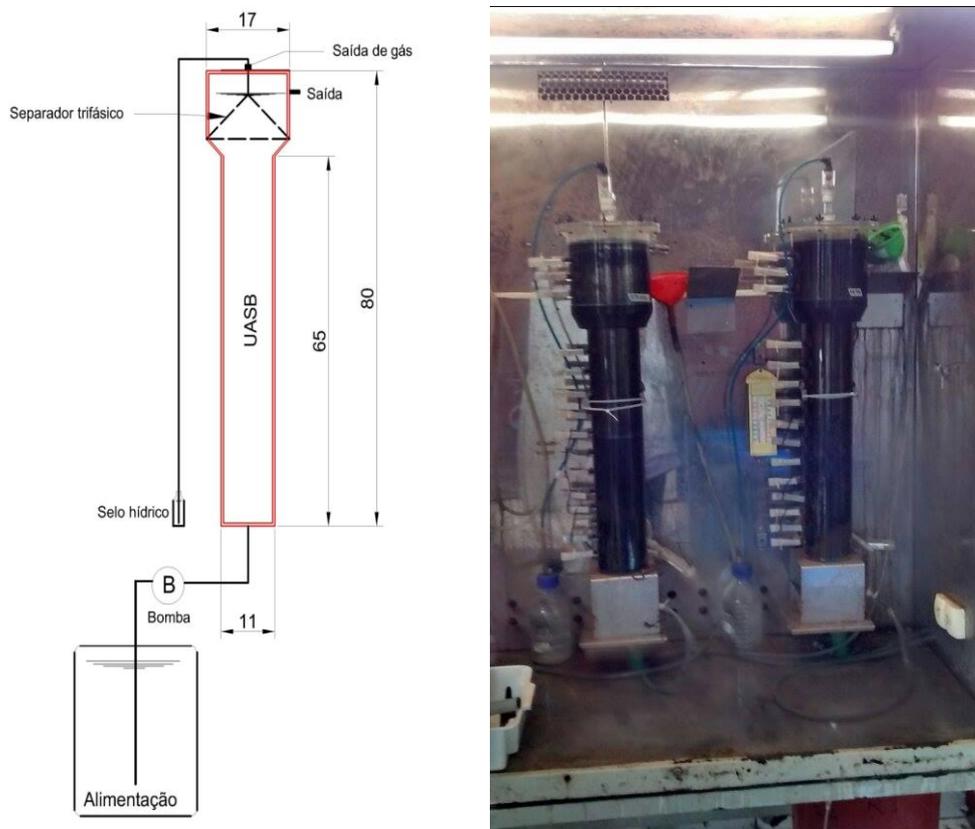


Figura 3 - Representação dos reatores utilizados.

Fonte: produção do próprio autor.

Os reatores utilizados possuíram um volume útil de 9,8 litros cada, sendo aplicado um tempo de detenção hidráulica de 24 horas. O sistema foi mantido em uma câmara em temperatura controlada em 30 °C.

#### 4.2 Inóculo

A biomassa utilizada foi proveniente de um reator UASB destinado ao tratamento dejetos do abatedouro de aves da empresa Avícola Dacar em funcionamento na cidade de Tietê, interior de São Paulo.

#### 4.3 Fases de operação

A operação dos reatores foi dividida em 5 fases, sendo elas apresentadas pela Tabela 3.

Tabela 3 - Fases de operação.

Fase	pH afluente	DQO/Sulfato	Duração (dias)
I	3,0	2,0	31
II	3,5	2,0	35
III	4,0	2,0	63
IV	4,0	1,5	22
V	4,0	0,8	22

\*Devido aos feriados de final de ano

Fonte: produção do próprio autor.

#### 4.4 Preparo do meio

Em todas as fases citadas no item 4.3, a alimentação de ambos os reatores foi realizada seguindo os dados dispostos na Tabela 4.

Tabela 4 - Formas e concentrações dos nutrientes, sulfato e metais na alimentação.

Componente	Forma	Concentração do componente (mg/L)
N	Cloreto de amônio	14,0
P	Fosfato monossódico	2,8
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (total)	Sulfato de sódio anidro	700
Fe <sup>2+</sup>	Sulfato ferroso heptahidratado	100,0
Zn <sup>2+</sup>	Sulfato de zinco heptahidratado	20,0
Cu <sup>2+</sup>	Sulfato de cobre pentahidratado	5,0

Fonte: produção do próprio autor.

O sulfato de sódio anidro era adicionado visando completar os 700 mg/L de sulfato no meio, sendo a soma desse com os outros sulfatos presentes. Com relação às concentrações da fonte de carbono, essas se diferenciam em

três momentos sendo que as formas e concentrações (na forma de DQO) utilizadas estão apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 - Formas e concentrações das fontes de carbono utilizadas.

Fase	Elemento	Forma	DQO teórica (mg/L)
I,II e III	Etanol	Etanol 95° GL	1400,0
	Lactato	Lactato de sódio	1400,0
IV	Etanol	Etanol 95° GL	1050,0
	Lactato	Lactato de sódio	1050,0
V	Etanol	Etanol 95° GL	560,0
	Lactato	Lactato de sódio	560,0

Fonte: produção do próprio autor.

É importante lembrar que durante toda a operação a concentração de sulfato foi mantida em 700 mg/L. Em todas as fases citadas o afluente era preparado a partir de água proveniente de abastecimento público. O preparo do afluente era feito seguindo os seguintes passos:

1. Enchimento do recipiente utilizado para a alimentação com água proveniente do abastecimento público;
2. Correção do pH da água para 3,0 por meio da adição de ácido clorídrico (HCl) concentrado e monitoramento com um medidor de pH;
3. Adição dos nutrientes, sulfato, metais e fonte de carbono seguindo as quantidades obtidas através das Tabelas 4.2 e 4.3, sendo homogeneizada a solução após cada adição;
4. Medição do pH e correção do mesmo para os valores indicados em cada fase de operação com a utilização de HCl concentrado (P.A) e Hidróxido de Sódio (NaOH);
5. Medição de vazão por método direto e ajuste na bomba para que o TDH seja de aproximadamente 24 horas.

#### 4.5 Monitoramento

As análises realizadas durante o monitoramento e suas frequências estão apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6 - Análises realizadas e suas frequências.

Parâmetro	Método (subitem)	Frequência da análise
DQO	4.5.1	2 vezes por semana
Concentração de Sulfato	4.5.2	2 vezes por semana
Concentração de Sulfeto	4.5.3	2 vezes por semana
Alcalinidade e ác. voláteis	4.5.4	1 vez por semana
pH	4.5.5	2 vezes por semana
Ácidos orgânicos	4.5.6	2 vezes por semana
Metais (Fe, Cu, Zn)	4.5.8	2 vezes por mês
Gases (N, CH <sub>4</sub> , CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> S)	4.5.9	2 vezes por semana

Fonte: produção do próprio autor.

Os parâmetros foram amostrados e quantificados segundo o apresentado pela Figura 4.

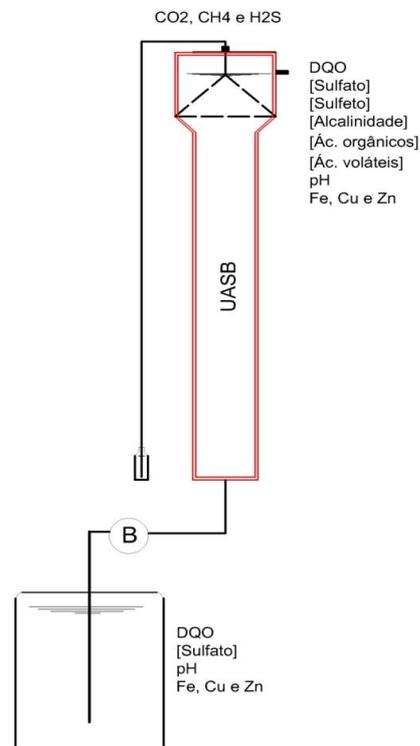


Figura 4 - Locais de amostragem dos parâmetros analisados.

Fonte: produção do próprio autor.

As medidas de DQO, pH, Sulfato e metais foram feitas seguindo o Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (Eaton *et al.*, 2012), sendo seus respectivos códigos:

- DQO: método 5220 D (colorimétrico – refluxo fechado);
- Sulfato: método  $\text{SO}_4^{2-}$  E;
- pH: método 4500 –  $\text{H}^+$  B (eletrométrico);
- Metais: método 3111.

O detalhamento dessas análises e das demais realizadas por outras metodologias estão descritas nos itens de 4.5.1 a 4.5.8.

#### 4.5.1 Demanda química de oxigênio

Todas as análises de DQO foram realizadas em duplicata, sendo coletadas amostra dos afluentes de RE e RL e efluente dos mesmos, sendo essas últimas divididas em amostras filtradas em filtro de 22 micrometros e não filtradas.

Foi utilizado espectrofotômetro da marca *Hach*® modelo DR-2800, em comprimento de onda de 620 nanômetros. A curva analítica foi calibrada no intervalo de 25 a 800 mg/L, gerando resultados em miligramas de oxigênio por litro.

#### 4.5.2 Sulfato

As análises foram feitas em duplicada, sendo amostrada a alimentação e o efluente, esse último sendo coletado diretamente na saída do reator para evitar o contato com o oxigênio.

Utilizou-se o método turbidimétrico em espectrofotômetro da marca *Hach*® modelo DR-2800. Foi fixada em 2 mL a amostra de uma solução de

acetato de zinco (220 g L<sup>-1</sup>) e a utilização de centrifuga por cinco minutos a 5000 rpm, para posterior análise do sobrenadante.

#### 4.5.3 Sulfeto dissolvido

A concentração de sulfeto dissolvido foi analisada em amostras, em duplicada, coletadas diretamente na saída dos reatores, reduzindo o contato com o oxigênio.

Foi adotado o método colorimétrico em espectrofotômetro da marca *Hach*® modelo DR-2800 por meio de *kit Hach*® específico para análises de sulfeto e produzido pelo fabricante. As amostras coletadas foram fixadas em 2 mL de uma solução de acetato de zinco (220 g L<sup>-1</sup>) para cada amostra.

#### 4.5.4 Alcalinidade e ácidos voláteis

Foram analisadas as amostras efluentes dos reatores RE e RL. Foi adotada o método titulométrico desenvolvido por DILALLO e ALBERTSON 1961, e modificado por RIPLEY et al.. 1986, sendo determinadas as alcalinidades total, parcial, intermediária e a de bicarbonato, além dos ácidos voláteis. Todas as análises foram realizadas logo após o momento da coleta.

#### 4.5.5 pH

As medidas de pH foram realizadas nas amostras do afluente e efluente de ambos os reatores logo após sua amostragem. Utilizou-se um potenciômetro da marca *Denver Instruments*® modelo UB – 10 e precisão de 0,005 pH calibrado diariamente.

#### 4.5.6 Ácidos orgânicos

Tal análise foi realizada para analisar os efluentes de RE e RL amostrados diretamente na saída dos reatores. Em razão da utilização dos equipamentos para outras finalidades, as amostras eram coletadas e congeladas até a realização da medição.

Os ácidos analisados (acético, butírico, propiônico, láctico, málico, succínico, valérico) e os álcoois (etanol, metanol) foram determinados por cromatografia líquida em HPLC (High Performance Liquid Chromatography). A diluição das amostras para a injeção era feita em ácido sulfúrico 0,5 M.

Fez-se uso de cromatógrafo Shimadzu® equipado com bomba LC-10ADVP, válvula FCV- 10ALVP, detector ultravioleta (UV) com arranjo de diodos (SPD-M10 AVP), controlador SCL-10AVP e injetor Rheodyne® (100µL loop), com coluna Aminex® HPX-87H (300 mm x 7,8mm; Bio58 Rad).

#### 4.5.7 Metais (Fe, Cu, Zn)

As análises de metais foram realizadas quinzenalmente, sendo as amostras congeladas e levadas a laboratório mensalmente. Anteriormente ao congelamento eram adicionadas aproximadamente 4 gotas de ácido nítrico em cada amostra. Eram coletadas amostras (50 ml) dos afluentes e efluentes de RE e RL.

As amostras afluente e efluente foram previamente digeridas com ácido nítrico e clorídrico e analisadas em espectrofotômetro de absorção atômica, Varian AA240FS.

#### 4.5.8 Gases (N, CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>)

As amostras para análise de gases eram retiradas diretamente nos septos localizados acima dos reatores e levados diretamente para a injeção.

Utilizou-se um cromatógrafo Shimadzu GC-2014, TCD e coluna HP-PLOT/Q (30 m x 0,53 mm de diâmetro interno x 40,0 µm de espessura de filme). O gás de arraste era o hidrogênio. Temperatura no injetor = 160 °C; split = 5,0, fluxo da coluna = 4,0 mL/min. Temperatura do detector = 170 °C; polaridade = + Temperatura do forno = 35 °C (2 min) até 170 °C (1 min), a 60°C/min. O tempo de corrida foi de 5,25 min.

#### 4.6 *Biologia molecular*

A fim de acompanhar a diversidade de organismos presentes nos reatores em diferentes etapas, foi feita eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE), possibilitando assim a avaliação visual do aumento ou não da variedade de organismos ativos.

#### 4.7 *Métodos estatísticos*

Com o intuito de verificar se o conjunto de dados formado pelas diferentes fases avaliadas foi utilizado a ferramenta estatística análise de variância – ANOVA para conjuntos com número diferentes de amostras, como demonstrado por Bussab e Morettin (1987).

Como forma de representação dos resultados obtidos foi adotado o gráfico estatístico do tipo Box Plot, utilizando o software livre SciDavis<sup>®</sup>, afim de facilitar a visualização e entendimento das diferenças e semelhanças entre os diferentes conjuntos comparados (BUSSAB; MORETTIN, 1987).

## 5 Resultados e discussões

Os dados apresentados nesse tópico se referem a continuação da operação dos reatores iniciada por Pimenta (2014), onde foi realizado o procedimento de partida dos mesmos. Sendo assim, a coleta de dados referentes a esse trabalho se iniciou no 165º dia de operação, dia 01 de setembro de 2014.

A apresentação e discussão dos resultados obtidos serão feitas de modo a comparar as fases I, II e III, visando assim verificar a influencia do pH, e as fases III, IV, V, observando os efeitos da relação DQO/Sulfato.

### 5.1 Efeito do pH

#### 5.1.1 pH efluente em RE e RL

Os valores de pH efluente medidos em RE estão apresentados pela Figura 5.

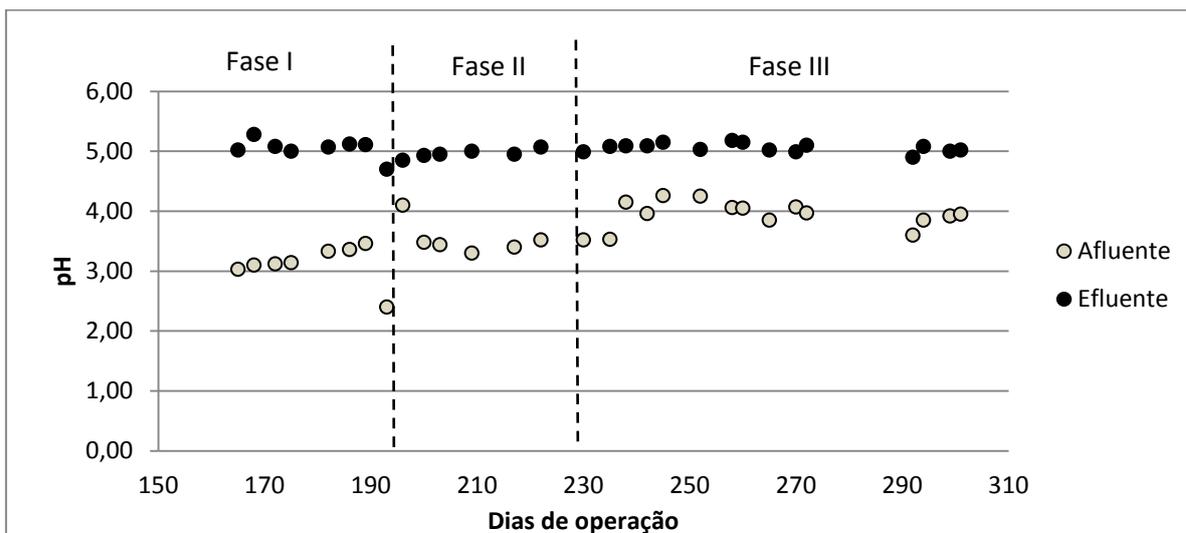


Figura 5 - Valores de pH efluente verificados para RE nas fases I, II e III.

Fonte: produção do próprio autor.

A observação dos valores de pH efluente indicam que não há grande interferência do pH afluente, na faixa testada, nesse parâmetro. Para auxiliar nessa análise, os valores médios dos dados apresentados pela Figura 5 e seus desvios para cada fase estão expostos na Tabela 7.

Tabela 7 – Valores de pH efluente médio e desvios padrão em RE.

Fase (n ° amostras)	pH aflu. Médio	Desvio padrão	pH eflu. Médio	Desvio padrão
I <sup>(9)</sup>	3,23	0,45	5,03	0,17
II <sup>(7)</sup>	3,46	0,08	5,00	0,06
III <sup>(13)</sup>	4,00	0,18	5,06	0,08

Fonte: produção do próprio autor.

Com os baixos valores de desvios padrão obtidos pode-se dizer que não há grande variação entre as fases quanto ao pH na saída do sistema, corroborando com a hipótese de sua baixa sensibilidade na alteração desse parâmetro.

Outro fator que reforça sua robustez quanto ao pH é a observação que mesmo em casos onde houve problemas no controle de entrada, como o dia de operação 193 (pH afluente de 2,4), não foi verificada mudanças bruscas no pH de saída (4,7). Ou seja, mesmo grandes alterações na entrada não ocasionam em perturbações significativas na saída.

Uma das maneiras de se entender o porquê do pH efluente em RE circundar o valor de 5,0, tendo a média entre as fases de  $5,01 \pm 0,1$ , é se observar a formação e acúmulo de ácido acético no sistema, muito comumente observado em reatores utilizando etanol juntamente com o predomínio das BRS incompletas (BERTOLINO et al., 2011; GALLEGOS-GARCIA, 2008; LIAMLEAM; ANNACHHATRE, 2007; LENS et al., 1998). Esse composto possui pKa de 4,76 e tem a capacidade de tamponar o sistema, sendo seu acúmulo resultado principalmente da conversão de DQO e sulfato por BRS oxidativas incompletas.

Durante a partida desse reator em trabalho realizado por Pimenta (2014) obteve resultados muito semelhantes no pH efluente, sendo que sua condição de operação era a mesma da fase I do presente trabalho. As condições de partida com pH muito ácido (aproximadamente 3,0) pode ter sido fator

determinante para a seleção das BRS do tipo oxidativas incompletas no sistema.

Outro fator a ser considerado é a alcalinidade produzida no sistema devido aos intermediários do processo metabólico, reduzindo assim a acidez do efluente.

Os dados expostos na Figura 5 foram submetidos a análise de variância (ANOVA) desbalanceada e representados na forma de Box Plot com o intuito de avaliar se realmente há uma robustez do sistema em relação a esse parâmetro. O resultado dessas análises está apresentado pela Figura 6.

Em casos onde os dados são estatisticamente iguais segundo a ANOVA, esses são colocados com as bordas na forma de traços. Quando somente um deles é estatisticamente igual aos demais somente ele recebe a borda diferenciada. Essa padronização na representação se repete durante toda análise dos dados apresentados neste trabalho.

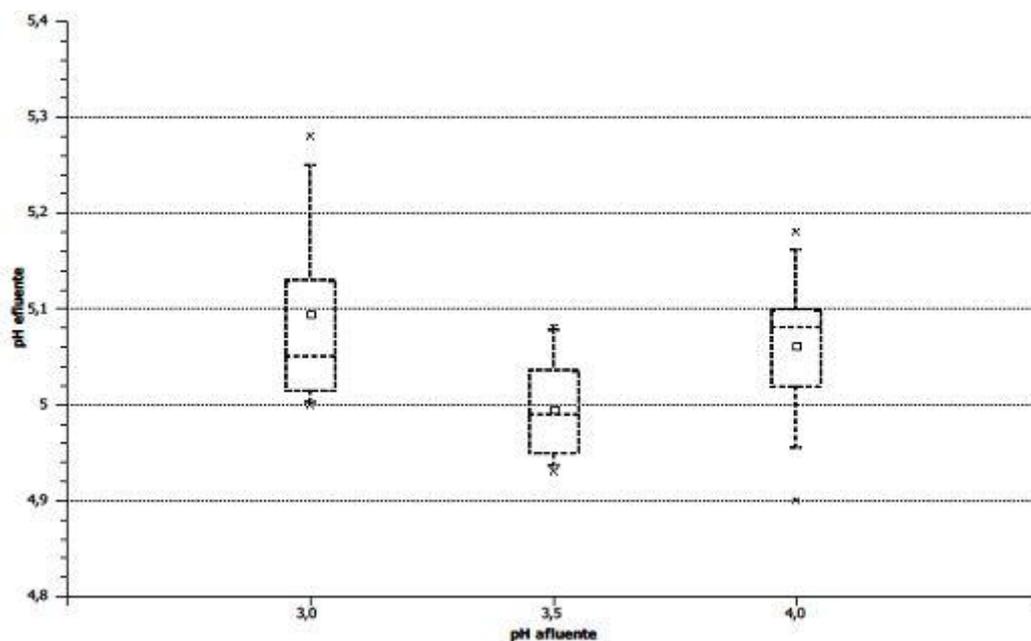


Figura 6 - Interferência do pH afluente no pH efluente em RE nas fases I, II e III – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Com a análise dos dados e representações citadas anteriormente pode-se dizer que o pH afluente não tem interferência significativa, para os valores

testados, no pH efluente, visto que pela Figura 6 as saídas são estatisticamente iguais segundo a ANOVA, corroborando com o já dito.

Com relação a RL, os valores obtidos para pH efluente estão contidos na Figura 7.

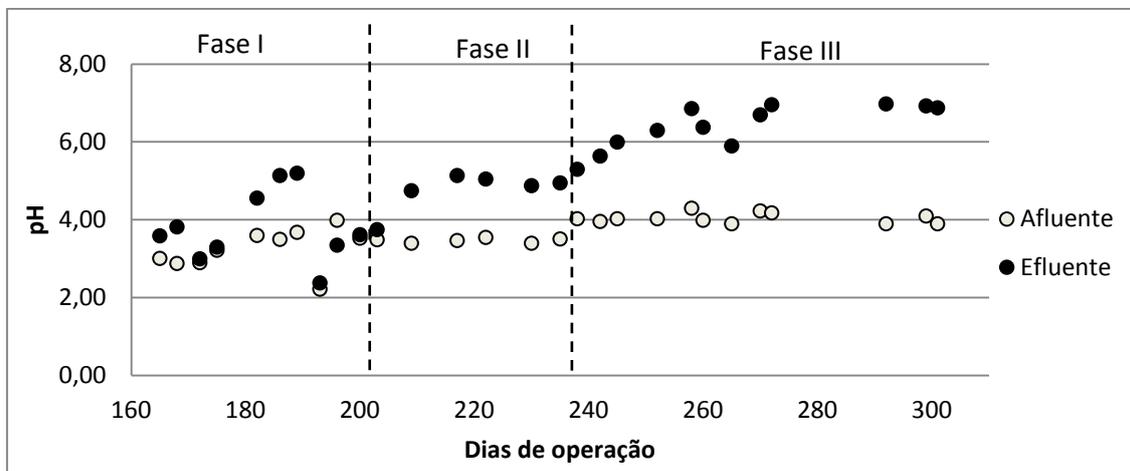


Figura 7 - Valores de pH efluente medidos em RL nas fases I, II e III.

Fonte: produção do próprio autor.

Como pode ser observado na Figura 7 houve, no início da operação, problemas relacionados ao controle do pH na alimentação. Isso ocorreu devido um defeito no instrumento de medição de pH, sendo que o valor indicado se distanciava consideravelmente do valor real. Após a identificação do erro o problema foi corrigido, beneficiando assim o controle desse parâmetro.

As médias referentes a cada uma das fases estão apresentadas na Tabela 8.

Tabela 8 - Valores de pH efluente médio e desvios padrão.

Fase (n ° amostras)	pH aflu. Médio	Desvio padrão	pH aflu. Médio	Desvio padrão
I <sup>(9)</sup>	3,22	0,53	3,82	0,97
II <sup>(7)</sup>	3,48	0,63	4,59	0,62
III <sup>(13)</sup>	4,04	0,13	6,44	0,55

Fonte: produção do próprio autor.

Por meio dos dados apresentados tem-se que as elevações do pH resultaram em uma sensível redução da acidez efluente, indicando uma sensibilidade do sistema em relação a esse parâmetro. O efeito positivo da

elevação do pH se dá pela redução da energia gasta pelos grânulos para regular seu pH interno, tendo como resultado uma maior energia disponível para o crescimento e metabolismo das BRS. Outro fator importante para esse benefício é o balanço ácido láctico e lactato em função do pH, como demonstrado na Figura 8.

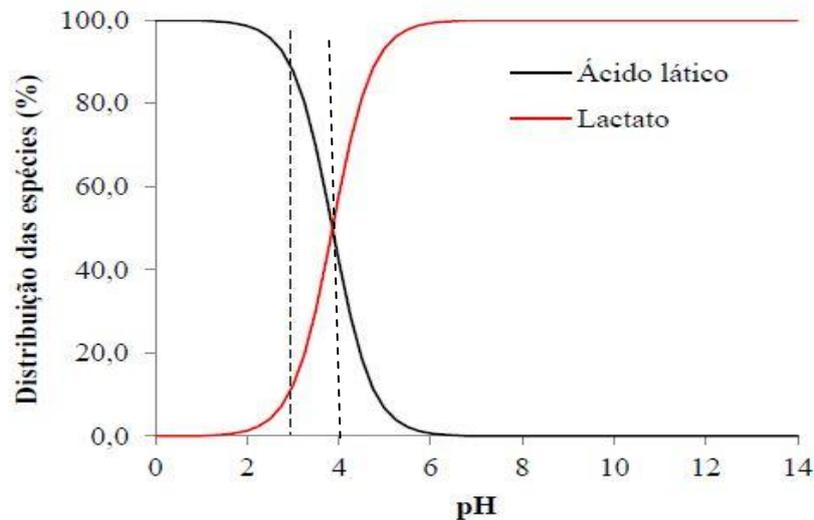


Figura 8 - Balanço entre ácido láctico e lactato em função do pH.

Fonte: adaptado de PIMENTA, 2014.

O ácido láctico pode perpassar a membrana celular, assim como o ácido acético, e acidificar o citoplasma das células, devendo ser evitados valores muito baixos de pH (LENS et al., 2000).

Como pode ser visto na Figura 8, a elevação do pH no meio, ainda que pequena, resulta em grande aumento da concentração de lactato e redução da forma de ácido (como pode ser verificado na Tabela 8), contribuindo assim para uma solução menos ácida na saída de RL e para um melhor desempenho das sulfetogênicas. A fim de melhor ilustrar esse efeito, tem-se a Figura 9 com o box plot e ANOVA dos dados obtidos.

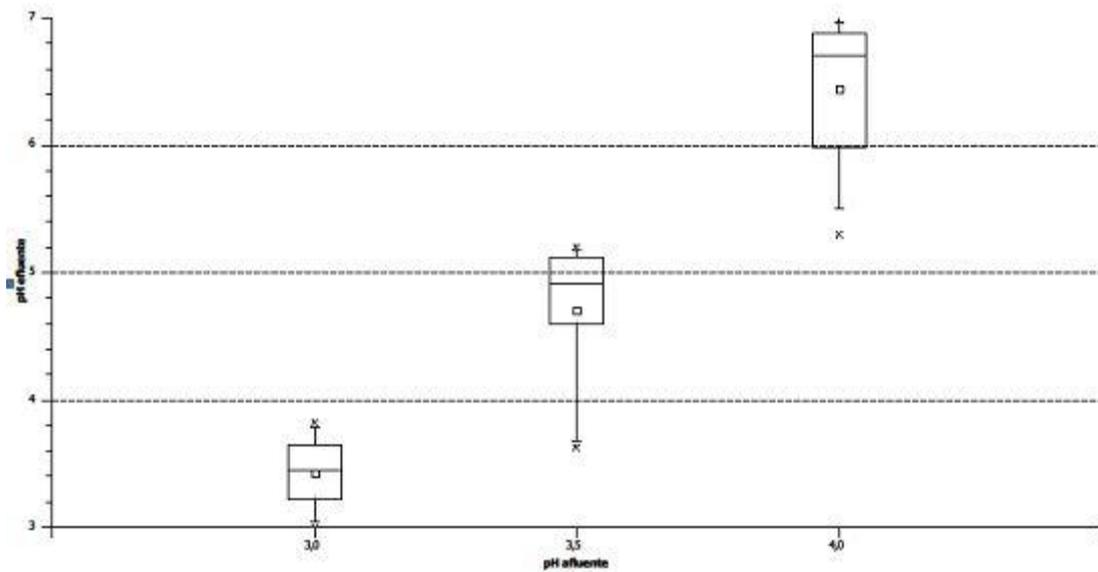


Figura 9 - Interferência do pH afluente no pH efluente em RL nas fases I, II e III – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Por meio da Figura 9, a resposta positiva do sistema fica muito clara, sendo que a fase III apresenta valores muito próximos de 7,0 enquanto na fase I quase não há elevação.

### 5.1.2 DQO em RE e RL

Os valores de DQO afluente e efluente bem como sua remoção no sistema estão apresentados pela Figura 10.

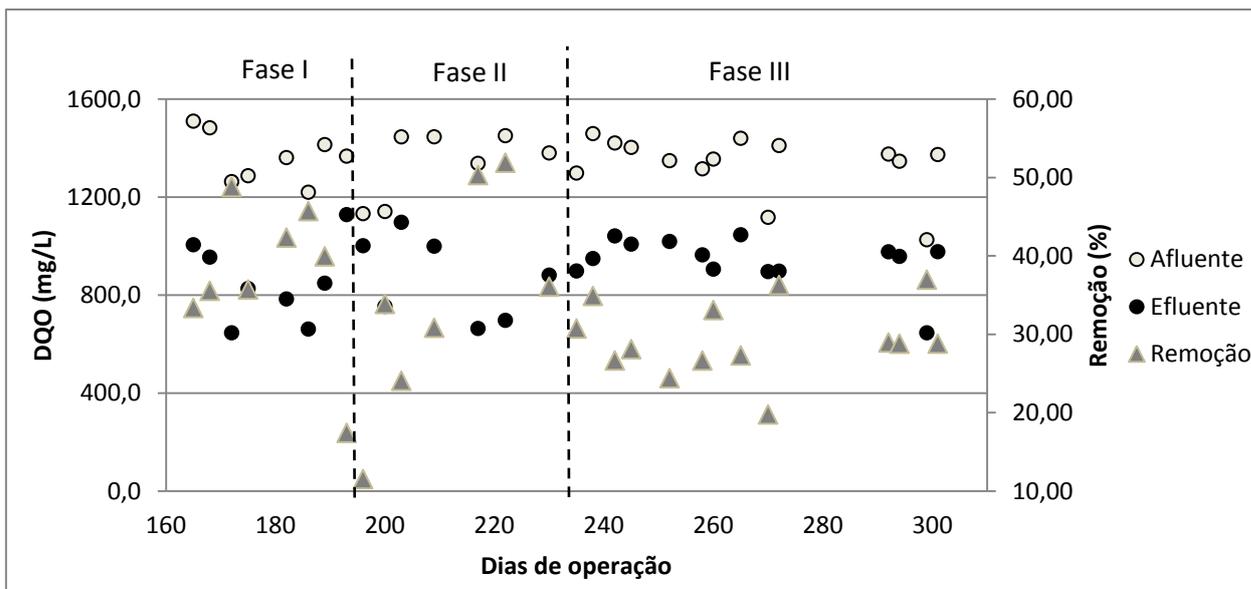


Figura 10 - Valores de DQO medidos em RE nas fases I, II e III.

Fonte: produção do próprio autor.

Para fim de entendimento e discussão dos resultados é mais interessante a avaliação dos valores de remoção apresentados do que os valores de entrada e saída propriamente ditos devido a melhor visualização de tendências. Os valores médios de remoção da Figura 10 e seus desvios estão apresentados pela Tabela 9.

Tabela 9 - Valores de remoção de DQO e seus desvios.

Fase (n <sup>o</sup> amostras)	Rem. Média (%)	Desvio padrão
I <sup>(9)</sup>	35	12
II <sup>(7)</sup>	37	10
III <sup>(13)</sup>	29	5

Fonte: produção do próprio autor.

Com o comportamento observado pela Figura 10 pode-se dizer que há uma forte relação entre o pH afluente quando muito baixo e a remoção observada, sendo que quando houve um valor de pH afluente abaixo do esperado (dia 193) a remoção se aproximou de zero.

Isso se deve a inibição das BRS devido as concentrações de H<sub>2</sub>S (Figura 1) as de ácidos orgânicos provocados pelos baixos valores de pH, como já observado por diferentes trabalhos e as formas em que os compostos

se apresentam em baixo pH (COLLERAN, FINNEGANS; LENS, 1994; GÓMEZ, 2013).

Rodriguez et al. (2012) obteve uma remoção média de DQO operando um reator UASB utilizando a mesma fonte de carbono, pH aproximadamente 4,0 e DQO/Sulfato = 1 de  $67 \pm 10\%$ , sendo mais elevados dos que aqui verificados. Fato esse por ser devido a quantidade de BRS de oxidação completa no lodo, por sua menor produção de ácidos no sistema quando comparado com as incompletas. Como RE teve sua operação iniciada com pH 3,0 com Pimenta (2014) e na fase I desse trabalho, pode ser que o acúmulo de ácidos tenha sido favorecido, impactando assim no acúmulo de ácidos.

Os baixos valores de conversão de DQO observados se devem muito ao acumulado dos ácidos, principalmente acético, no sistema, uma vez que esses compõem parte do oxigênio demandado na medida de DQO, além de sua influência na atuação dos organismos. Para visualizar essa interferência na DQO, a Figura 11 apresenta a diferença na medida efluente considerando e subtraindo os ácidos quantificados na forma de DQO equivalente.

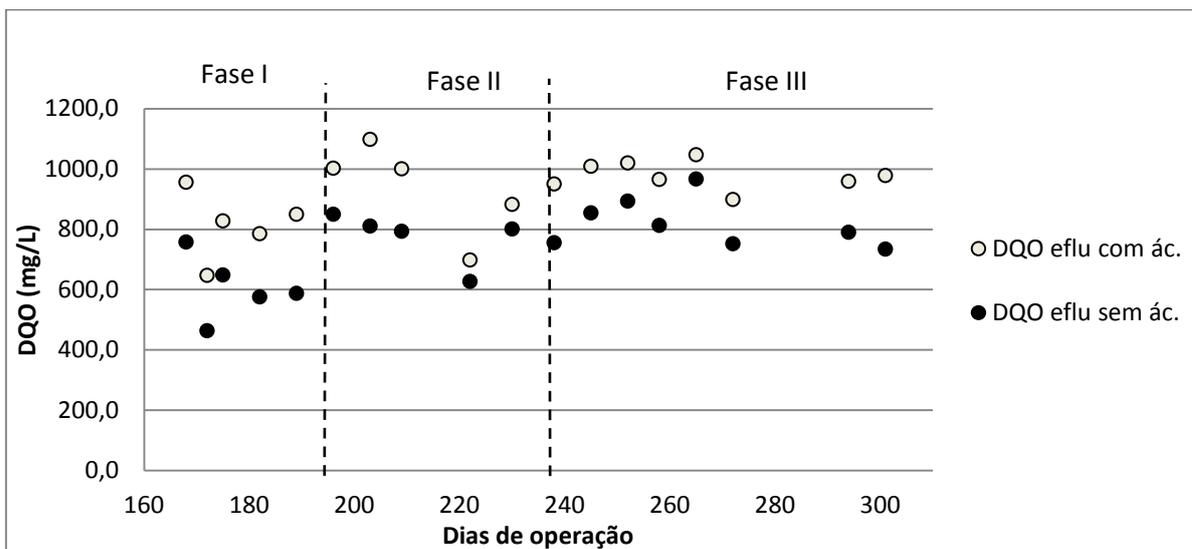


Figura 11 - Valores de DQO com e sem os ácidos orgânicos para RE nas fases I, II e III.

Fonte: produção do próprio autor.

Os valores médios e seus desvios dos dados da Figura 11 estão apresentados pela Tabela 10.

Tabela 10 - Valores de DQO com e sem os ácidos em RE.

Fase (n <sup>o</sup> amostras)	DQO com ác.		DQO sem ác.		DQO ácidos/ DQO total (%)
	DQO Média (mg/L)	Desvio padrão	DQO Média (mg/L)	Desvio padrão	
I <sup>(9)</sup>	845	127	647	138	23,4
II <sup>(7)</sup>	920	172	758	88	17,6
III <sup>(13)</sup>	979	50	832	78	15,0

Fonte: produção do próprio autor.

Além dos ácidos orgânicos, as concentrações de sulfeto na fase líquida, metais e outros componentes presentes no efluente consomem oxigênio no momento da análise de DQO, sendo que um pós tratamento visando a retirada desses poderia elevar consideravelmente a fração de DQO removida pelo sistema.

A fim de possibilitar uma análise mais criteriosa e de cunho estatístico, a Figura 12 contém uma representação em box plot e análise pela ANOVA.

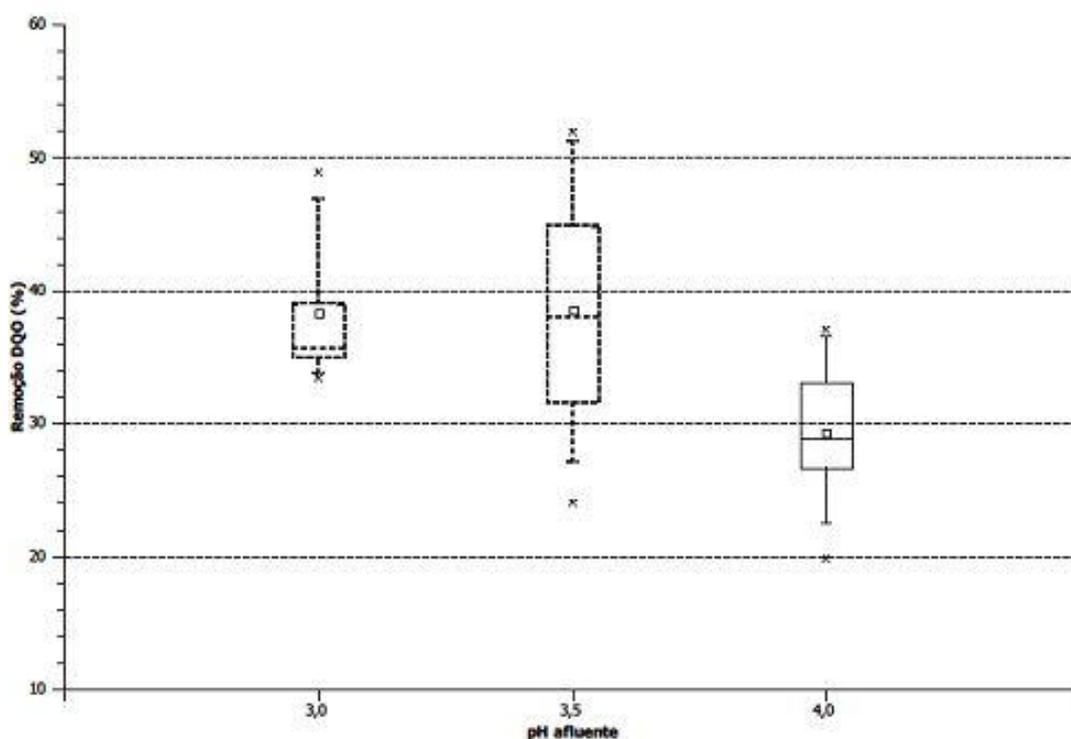


Figura 12 - Interferência do pH afluente na remoção de DQO em RE nas fases I, II e III – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Observando as Figuras 10 e 12 é possível verificar que não houve mudanças na remoção de DQO devido a variação do pH de 3,0 para 3,5, havendo, no entanto, um pequeno prejuízo no aumento para 4,0, indo de 37% para 29%. Considerando os desvios padrão apresentados pela Tabela 9, pode-se observar que, mesmo que estaticamente os valores sejam diferentes, os mesmos estão muito próximos. Quando se leva em consideração a incerteza da medida devido ao equipamento e ao método, é razoável pensar que a diferença observada não é fruto de alterações no sistema, mas sim de características da medida.

Já para o reator alimentado com lactato, os valores de DQO e remoção observada estão presentes na Figura 13.

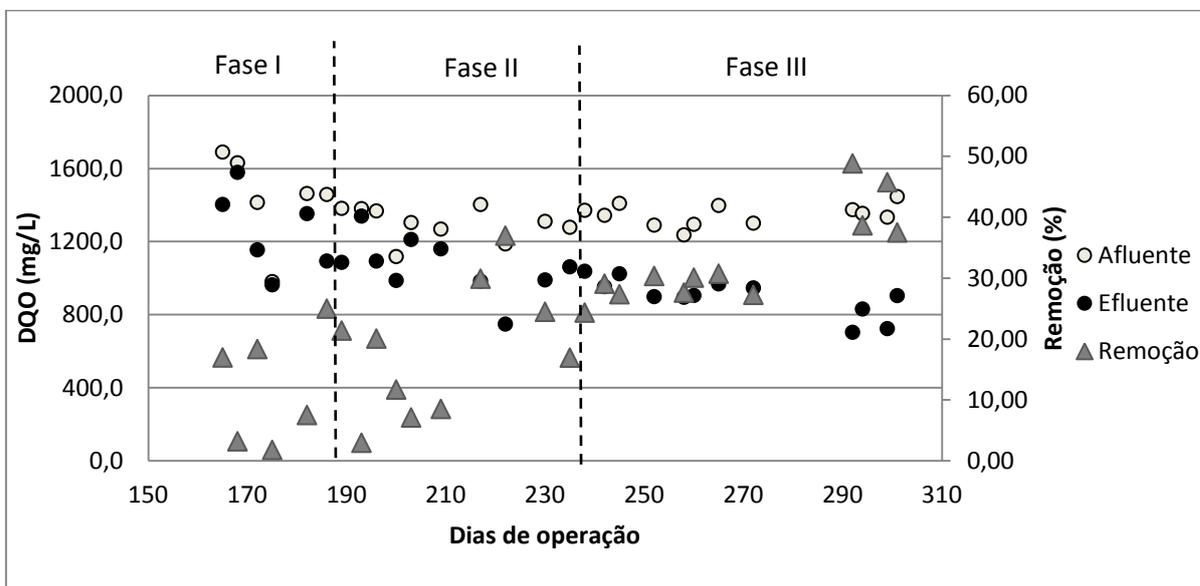


Figura 13 – Valores de DQO medidos em RL nas fases I, II e III.

Fonte: produção do próprio autor.

As remoções médias de cada fase e os respectivos desvios encontram-se na Tabela 11.

Tabela 11 - Valores de remoção de DQO e seus desvios.

Fase (n <sup>o</sup> amostras)	Rem. Média (%)	Desvio padrão
I <sup>(9)</sup>	13	9
II <sup>(7)</sup>	19	11
III <sup>(13)</sup>	33	8

Fonte: produção do próprio autor.

Como já dito anteriormente, existe uma série de fatores que interferem nesse parâmetro, sendo que não somente o lactato residual é considerado na medida da DQO. Como também realizado para RE, a fim de se observar a interferência dos ácidos na medida de DQO na amostra efluente foi feita a conversão da somatória dos ácidos orgânicos para sua DQO equivalente e esse valor foi subtraído da DQO medida nas amostras. Assim sendo, tem-se a Figura 14.

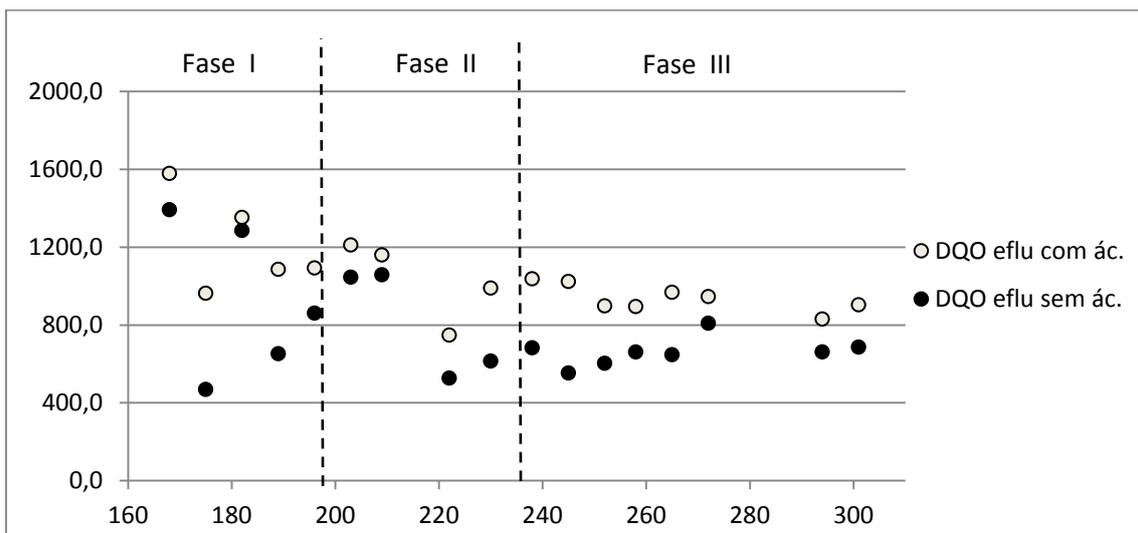


Figura 14 - Valores de DQO com e sem os ácidos orgânicos para RL nas fases I, II e III.

Fonte: produção do próprio autor.

Os valores médios de cada fase e seus desvios estão expostos na Tabela 12.

Tabela 12 - Valores de DQO com e sem os ácidos em RE.

Fase (n <sup>o</sup> amostras)	DQO com ácidos		DQO sem ácidos	
	DQO Média (mg/L)	Desvio padrão	DQO Média (mg/L)	Desvio padrão
I <sup>(9)</sup>	1215	248	932	398
II <sup>(7)</sup>	1028	209	812	280
III <sup>(13)</sup>	943	74	660	79

Fonte: produção do próprio autor.

Primeiramente, comparando os resultados antes e depois da subtração dos ácidos é possível se verificar a representatividade dos mesmos na DQO,

sendo indicado um pós-tratamento para sua remoção, a exemplo do que ocorreu com RE. De qualquer maneira, principalmente por meio dos dados da Figura 13, pode ser verificada a elevação da remoção de DQO com o passar das fases, mesmo quando pequenos sempre indicam uma tendência de crescimento.

A Figura 15 apresenta as análises em Box plot e ANOVA para os dados obtidos para RL.

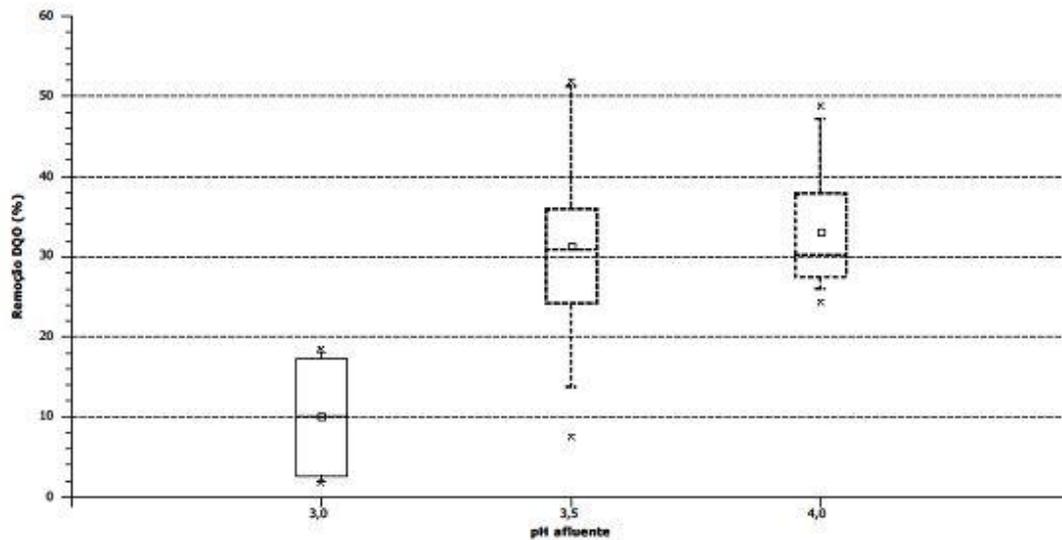


Figura 15 - Interferência do pH afluyente na remoção de DQO em RL nas fases I, II e III – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Devido os momentos de transição dentro das fases e o grande numero de extremos no inicio da operação em decorrência de problemas no medidor de pH (como já discutido nos itens anteriores), observam-se desvios padrão muito grandes nas fases I e II, prejudicando assim a análise estatística do processo nas fases iniciais.

Mesmo assim, por meio dos dados da Tabela 11 e o comportamento presente na Figura 15 pode-se dizer que há um efeito positivo, ainda que pequeno, da elevação do pH na remoção de lactato do sistema. Apesar desse ganho não ser tão evidente quanto no item anterior devido aos pontos de transição e pontualidades na operação atenuaram esse efeito, pode ser identificado como uma tendência.

### 5.1.3 Sulfato em RE e RL

Com respeito a RE, os valores de concentração afluyente e efluente e remoção verificada no sistema estão expostos na Figura 16.

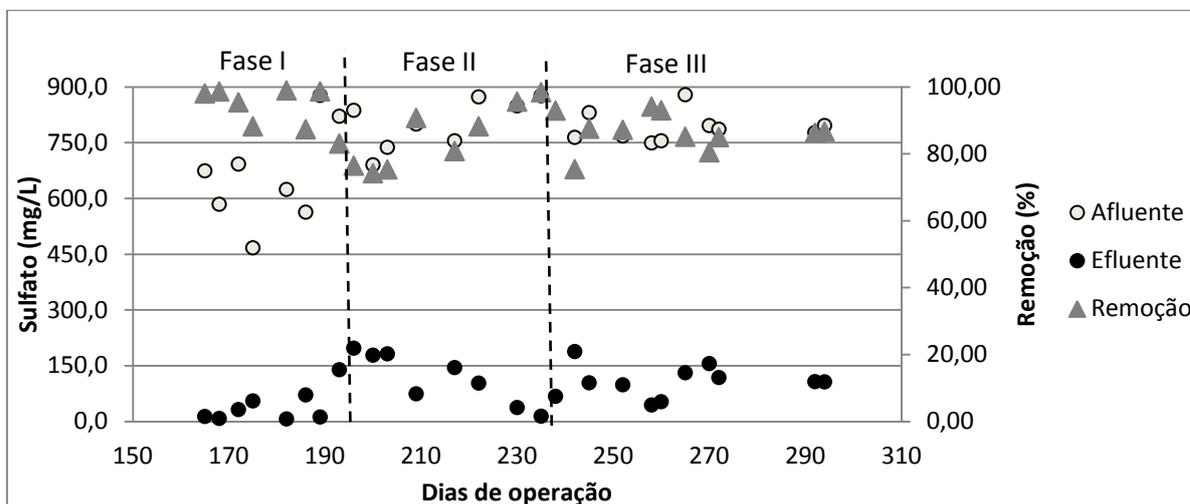


Figura 16 - Valores de sulfato medidos em RE nas fases I, II e III.

Fonte: produção do próprio autor.

A fim de analisar a atuação das BRS no meio é mais interessante observar os valores de remoção em relação as concentrações inicial e final. Sendo assim, as remoções médias e desvios referentes a cada uma das fazes estão contidos na Tabela 13.

Tabela 13 - Valores de remoção de Sulfato e seus desvios.

Fase (n <sup>o</sup> amostras)	Rem. Média (%)	Desvio padrão
I <sup>(9)</sup>	92	8
II <sup>(7)</sup>	86	10
III <sup>(13)</sup>	87	5

Fonte: produção do próprio autor.

Por meio da análise da Figura 16 e da Tabela 13 fica evidente que a variação do pH afluyente não tem grande efeito sob a remoção de sulfato no sistema, sendo as variações observadas graficamente e através dos desvios padrão fruto dos erros de medida do método empregado. Os erros do método estão associados a variação no tamanho dos cristais de cloreto de bário

utilizados e pela curva de calibração produzida a partir de uma solução ácida de grande volume preparada com diferentes vidrarias.

Mesmo com a variação observada, tem-se durante as fases I, II e III um elevado valor de remoção de sulfato, estando sempre acima de 80%. Isso indica que havia uma intensa atividade das BRS e que as concentrações de DQO e de sulfato fornecidas eram suficientes para um bom desempenho do sistema na conversão dessa espécie química.

A exemplo do realizado até então, a Figura 17 expõe uma análise estatística dos dados por meio da ANOVA e Box plot.

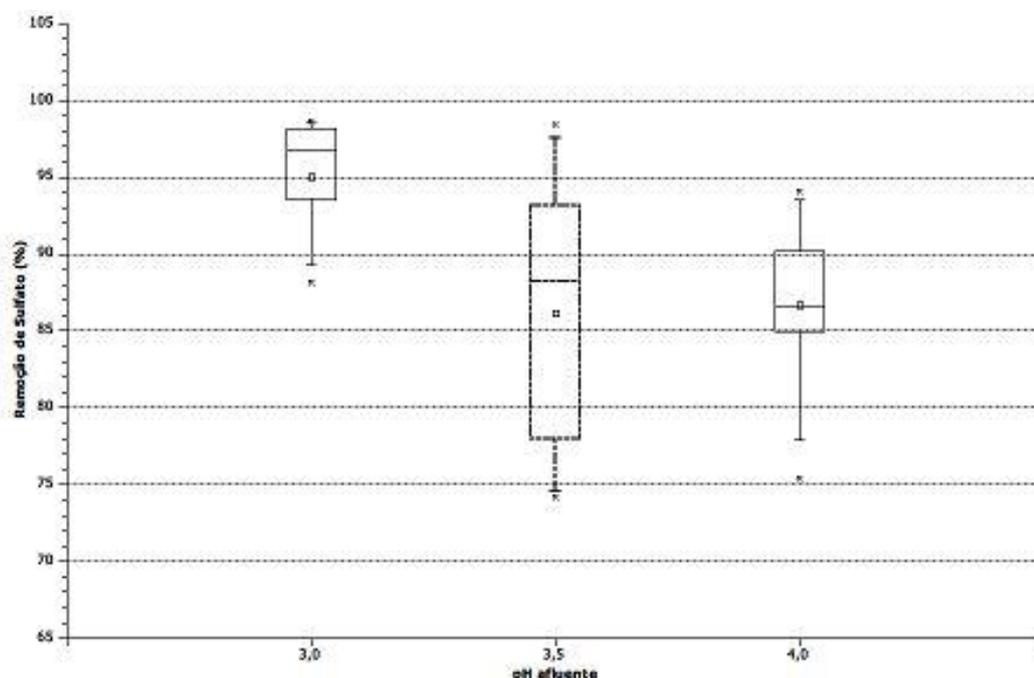


Figura 17 - Interferência do pH na remoção de Sulfato em RE nas fases I, II e III – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Ao observar a Figura 17 tem-se que existe uma grande dispersão dos dados apresentados na fase II, isso se deve a etapa de transição que houve entre as fases I e II e as flutuações devido a adaptação do meio. No entanto, mesmo com as diferenças verificadas na Tabela 10, não houve grande influência do pH efluente na remoção de sulfato, sendo observados grandes valores de conversão.

O comportamento das concentrações de sulfato em RL foi bem diferente do observado no reator alimentado com etanol, sendo que esse pode ser analisado pela Figura 18.

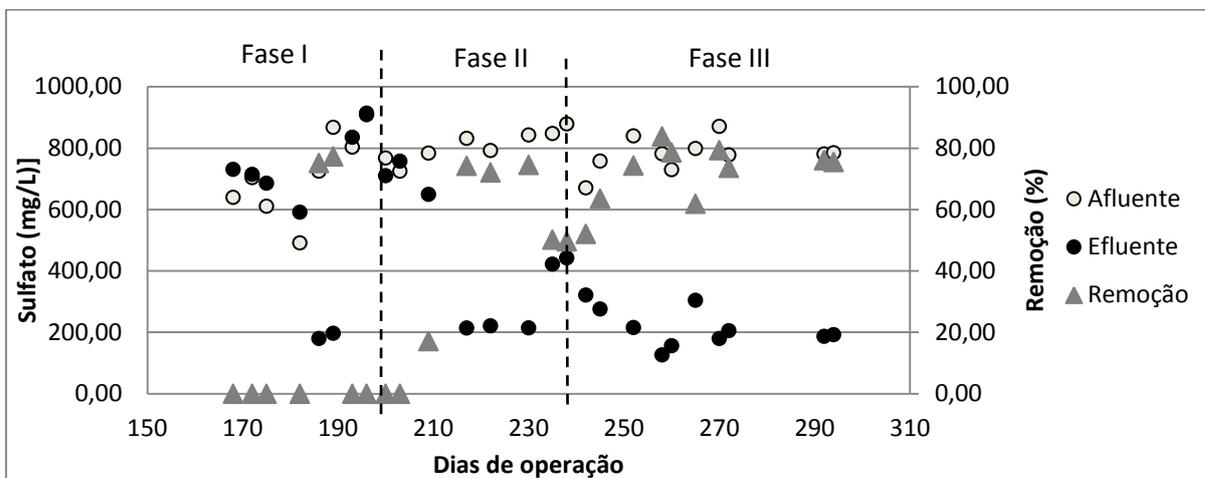


Figura 18 - Valores de sulfato medidos em RL nas fases I, II e III.

Fonte: produção do próprio autor.

A exemplo do verificado com a DQO, como já era esperado pela equação 6, tem-se claramente um beneficiamento do sistema na remoção de sulfato com as mudanças propostas.

Na fase I há dois dados que se apresentam totalmente fora do padrão inicial, isso se deve ao erro do pH afluente que resultou em valores bem acima do proposto nessa fase. Para melhor observar os efeitos das fases testadas, os dados de remoção média e desvio de cada uma delas estão dispostos na Tabela 14.

Tabela 14 - Valores de remoção de Sulfato e seus desvios.

Fase (n <sup>o</sup> amostras)	Rem. Média (%)	Desvio padrão
I <sup>(9)</sup>	0*	0*
II <sup>(7)</sup>	58**	25**
III <sup>(13)</sup>	70	11

(\*) Não considerados os pontos extremos; (\*\*) Sem considerar os primeiros pontos de transição onde o valor era zero.

Fonte: produção do próprio autor.

Por meio da Tabela 14 pode ser visto um grande valor de desvio na fase II fruto de um intenso impacto da variação do pH de 3,0 para 3,5, sendo que

inicialmente não havia atividade das BRS (remoção de sulfato zero). Essa mudança nesses organismos pode ser explicada pela Figura 8 havendo uma redução brusca na quantidade de ácido láctico no meio, permitindo assim a atuação das sulfetogênicas. A grande variação observada nos pontos referentes ao pH de 3,5 se dão pelo já citado período de transição entre as fases, onde inicialmente as medidas de remoção ainda eram iguais a zero devido ao tempo de resposta do sistema. A fim de facilitar a verificação da interferência do pH tem-se a Figura 19.

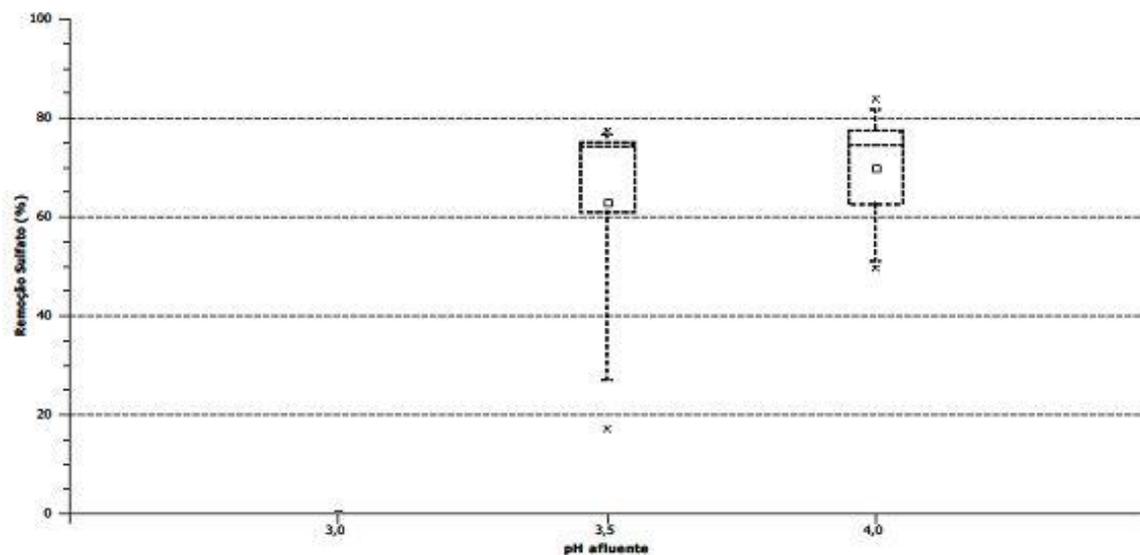


Figura 19 - Influência do pH afluente na remoção de sulfato em RL nas fases I, II e III – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Com a Figura 19 fica evidente a passagem de uma etapa inativa das BRS fase I para sua atividade na fase II. Com relação as fases II e III, como já verificado na outra representação, têm-se variações resultantes das transições entre as fases. A passagem entre II e III não apresentou variação estatística entre os grupos, sendo que essa variação não foi tão significativa quanto a anterior.

#### 5.1.4 Sulfeto em RE e RL

As concentrações medidas na fase líquida em RE nas fases I, II e III estão apresentadas na Figura 20.

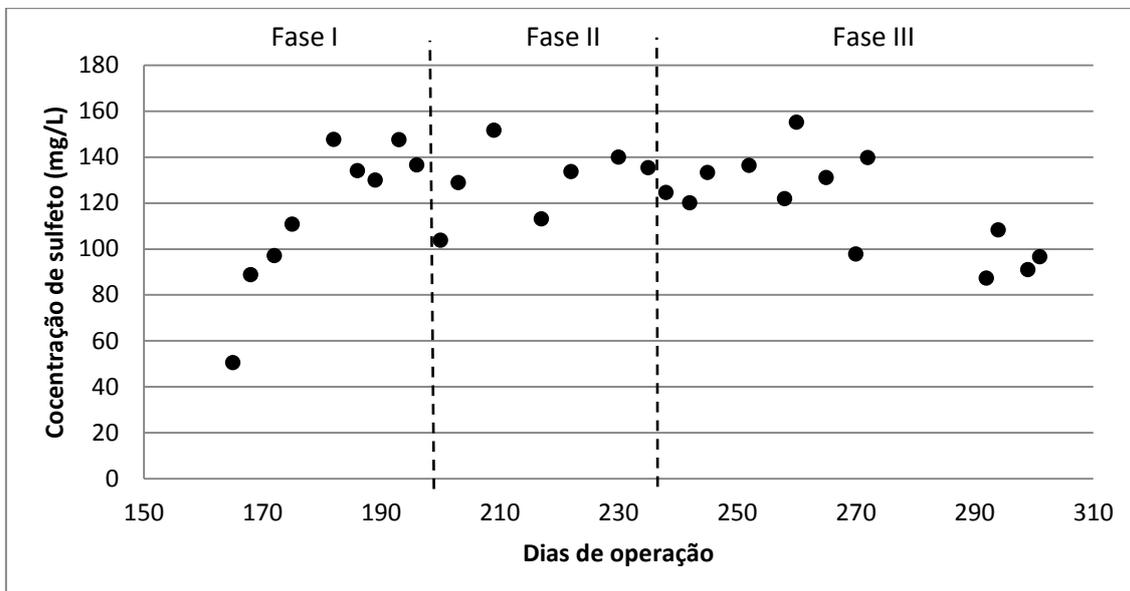


Figura 20 - Valores de sulfeto medidos em RE nas fases I, II e III.

Fonte: produção do próprio autor.

As médias para cada fase bem como seus desvios estão apresentados pela Tabela 15.

Tabela 15 - Valores de Sulfeto e seus desvios.

Fase (n <sup>o</sup> amostras)	Sulfeto (mg/L)	Desvio padrão
I <sup>(9)</sup>	116	33
II <sup>(7)</sup>	129	16
III <sup>(13)</sup>	119	21

Fonte: produção do próprio autor.

Os elevados valores de desvio padrão apresentados na Tabela 15 são fruto das transições acentuadas entre as fases, não havendo, em quase todos os casos, uma constância entre os dados.

Os valores apresentados pela Figura 20 indicam que, após um momento inicial de adaptação, há pequenas variações nos valores encontrados

diretamente relacionados com perturbações no pH afluente, sendo esse mais sensível a valores mais ácidos.

Isso se explica pela energia gasta pelos grânulos para manter um pH interno próximo do neutro, reduzindo a energia destinada a produção de sulfeto. Além disso, ocorre a alteração da forma que se encontra o composto (e sua fase de concentração), como apresentado na Figura 1.

A análise estatística dos dados apresentados está contida na Figura 21.

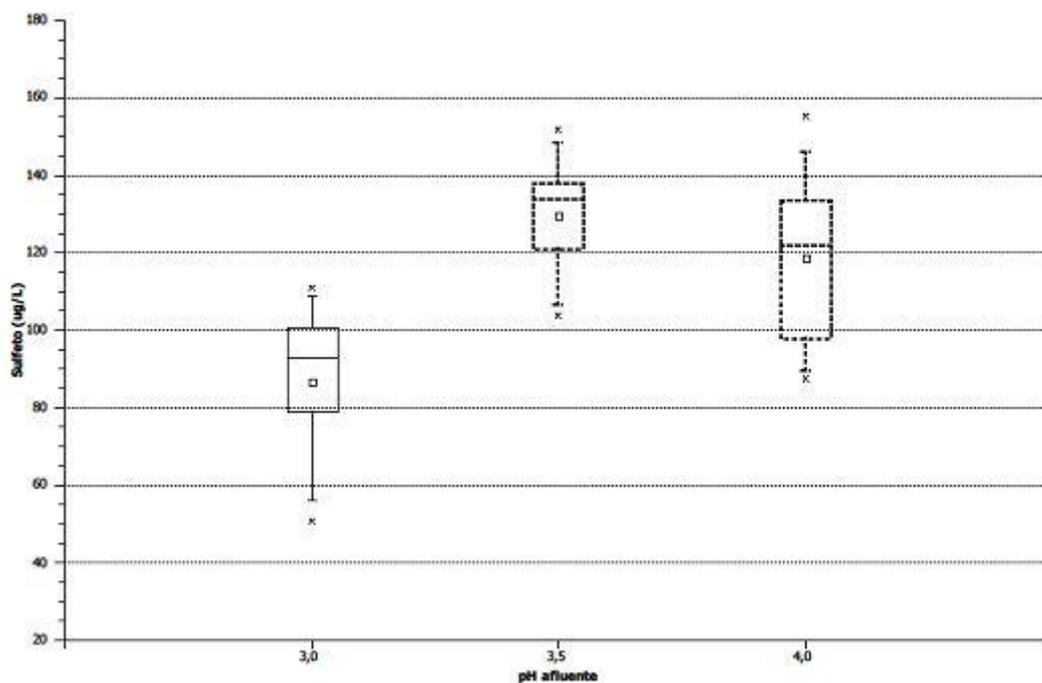


Figura 21 - Interferência do pH na produção de Sulfeto em RE nas fases I, II e III – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Os dados indicam que a variação observada na mudança da fase I para II se deve principalmente a fase inicial de adaptação (fase I) e valores de entrada muito ácidos, sendo que não existe grande influência desse parâmetro para pequenas flutuações. Com a segunda alteração não é observada estatisticamente diferenças entre os grupos de dados, sendo as concentrações de sulfeto nas três fases iniciais próximas de 100 mg/L.

A produção de sulfeto pode ter grandes consequências para operação do sistema uma vez que a concentração desse composto é um dos principais inibidores de muitos organismos (, COLLERAN; FINNEGANS; LENS, 1994; ISA et al., 1986; GÓMEZ, 2013).

Já para RL, as concentrações de sulfeto verificadas no efluente do reator são as expostas na Figura 22.

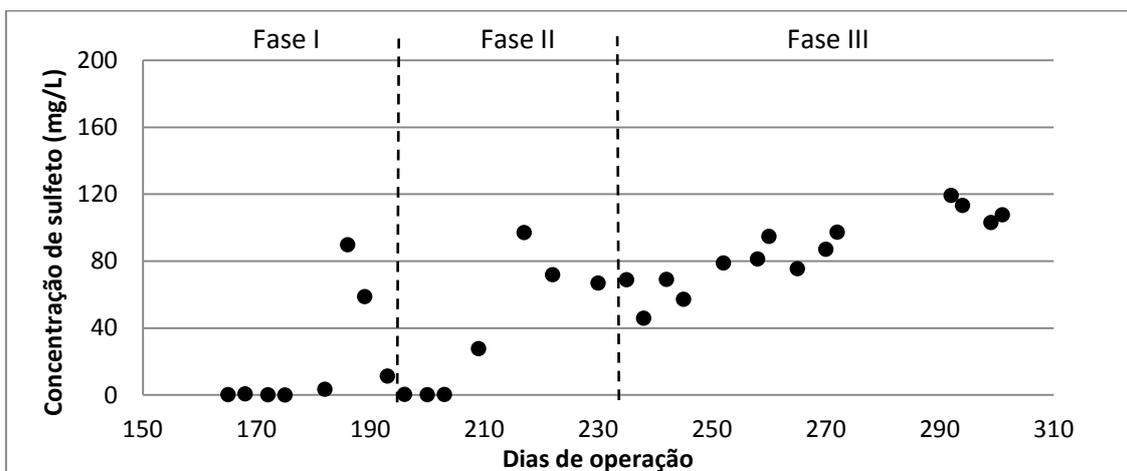


Figura 22 - Valores de sulfeto medidos em RL nas fases I, II e III.

Fonte: produção do próprio autor.

Como já era esperado, os dados aqui apresentados tem grande semelhança com os de remoção de sulfato observados na Figura 19. Ou seja, há um grande favorecimento do sistema nas mudanças iniciais e estabilidade nas duas últimas fases. As médias e desvios dos dados estão contidos na Tabela 16.

Tabela 16 - Valores de Sulfeto e seus desvios.

Fase (n amostra)	Sulfeto (mg/L)	Desvio padrão
I <sup>(9)</sup>	0,90*	1,31*
II <sup>(7)</sup>	66,60**	24,88**
III <sup>(13)</sup>	87,06	21,83

(\*) Não considerados os pontos extremos; (\*\*) Sem considerar os primeiros pontos de transição onde o valor era próximo de zero.

Fonte: produção do próprio autor.

Mesmo desconsiderando os valores extremos, os desvios apresentados, principalmente nas fases iniciais, é resultado da constante transição dos dados, mesmo dentro de uma mesma fase. Isso se dá pela adaptação do sistema as novas condições, sendo que essas modificações seguem a tendência de crescimento de concentração. A análise dos dados por meio da ANOVA e Box plot está exposta na Figura 23.

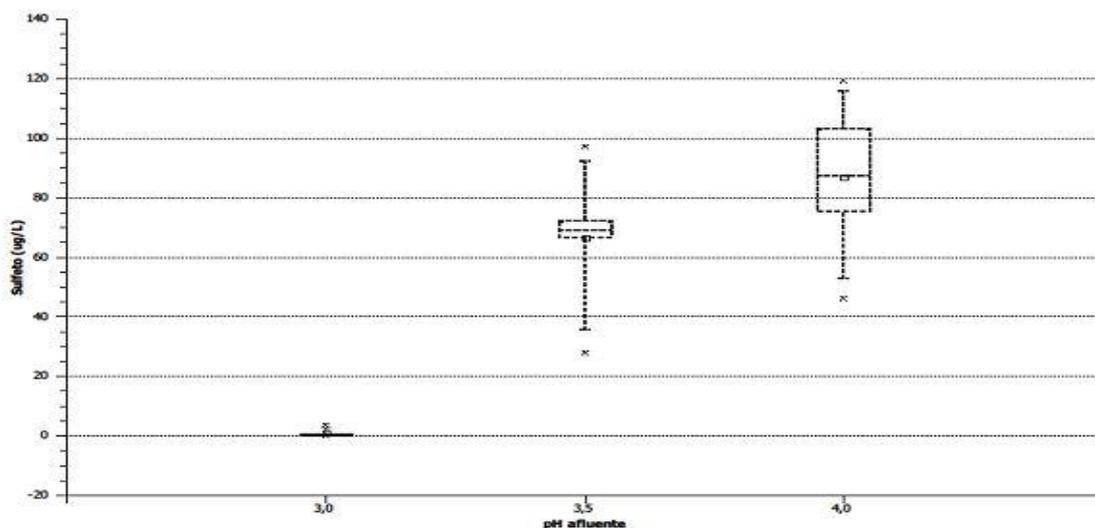


Figura 23 - Influência do pH afluente na produção de sulfeto em RL nas fases I, II e III – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Como já explicado anteriormente, os pontos na faixa do pH 3,5 com produção nula se referem a passagem entre as fases I e II. Na faixa do pH 4,0 tem-se grande variação, refletindo assim a adaptação do sistema nesse pH.

Por meio da Figura 23 pode se observar o ganho na produção de sulfeto decorrente da elevação do pH de 3,0 para 3,5. Isso se deve a redução da concentração de ácido láctico no sistema, como já discutido no item anterior. Com relação a passagem da fase II para a III, apesar da ANOVA não indicar diferença estatística entre os grupos, tem-se uma melhora no sistema ao longo do tempo, como mostrado na Figura 22. A igualdade estatística se deu pelo elevado desvio envolvido no conjunto de dados quando observada a transição com o tempo, sendo que entre o início e final da fase II há grande variação.

#### 5.1.5 Alcalinidade em RE e RL

Os valores de alcalinidade obtidos no efluente de RE estão dispostos na Figura 24.

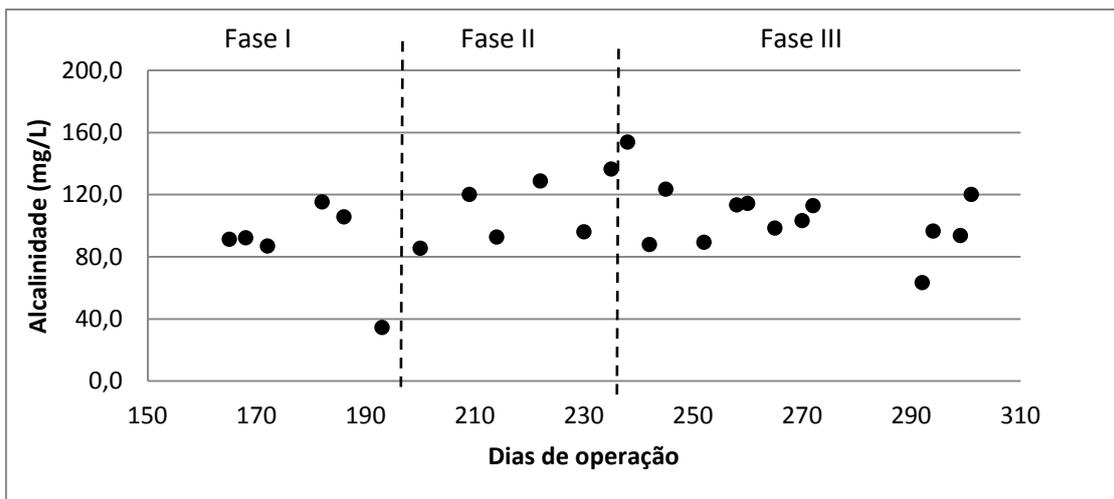


Figura 24 - Valores de alcalinidade medidos em RE nas fases I, II e III.

Fonte: produção do próprio autor.

As alcalinidades médias para cada fase bem como seus desvios estão apresentados pela Tabela 17.

Tabela 17 - Valores de alcalinidade e seus desvios.

Fase (n <sup>o</sup> amostras)	Alcalinidade (mg/L)	Desvio padrão
I <sup>(9)</sup>	87,78	28,11
II <sup>(7)</sup>	110,07	21,21
III <sup>(13)</sup>	105,56	21,77

Fonte: produção do próprio autor.

Por meio da Figura 24 e da Tabela 17 pode-se entender que houve pequenas variações de alcalinidade nas três fases iniciais, ocasionada principalmente por valores extremos de pH. Para melhor visualizar essa relação, tem-se a Figura 25.

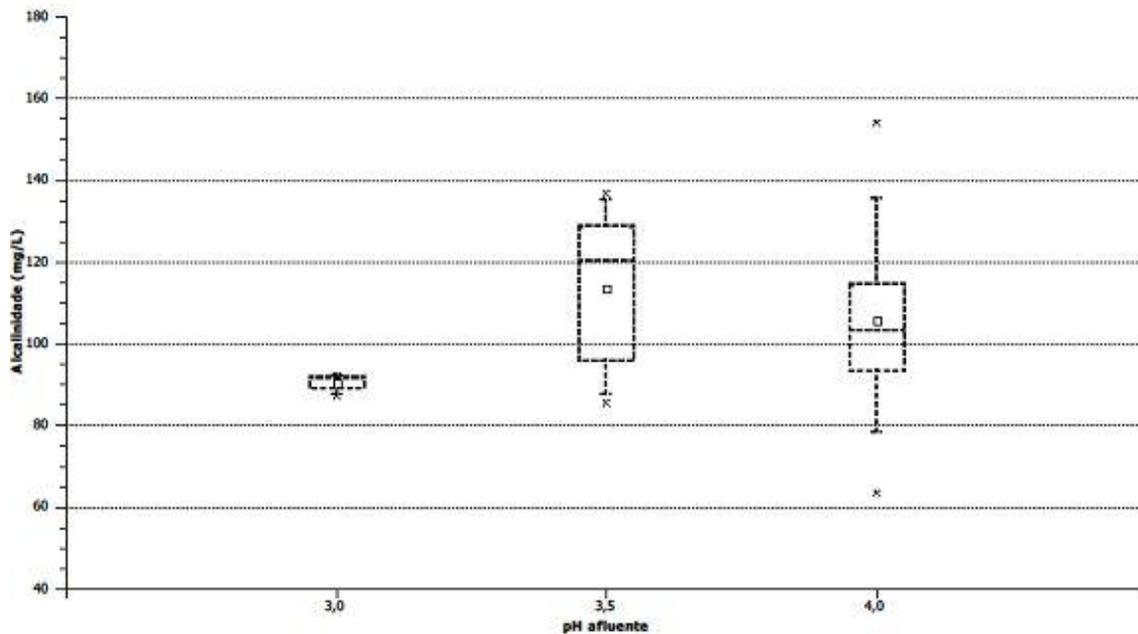


Figura 25 - Interferência do pH na produção de alcalinidade em RE nas fases I, II e III – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Tem-se inicialmente (fase I) flutuações resultantes dos problemas envolvendo o pH de entrada, sendo que esses parâmetros estão diretamente relacionados principalmente em grandes variações, fato esse explica o elevado valor de desvio padrão observado.

Na fase seguinte há um pequeno aumento dos valores observados resultante da alteração do valor do pH afluente para 3,5, esses porém não apresentam uma tendência clara de crescimento ou redução, estando sempre se intercalando em torno de sua média. Como a medida foi feita por titulação, tem-se uma incerteza elevada na medida devido ao meio ser tamponado (alto valor de desvio padrão).

O mesmo ocorre na fase III, sendo assim não se pode afirmar uma redução ou ascensão dos valores de alcalinidade. Essas afirmações são corroboradas pela Figura 25, onde os grupos foram apontados como estatisticamente iguais pela ANOVA.

Como era de se esperar, o comportamento da alcalinidade das três fases iniciais foi bem diferente em RL devido a maior atividade das BRS com a

elevação do pH como mostrado nos itens anteriores. Os dados de alcalinidade verificados estão apresentados pela Figura 26.

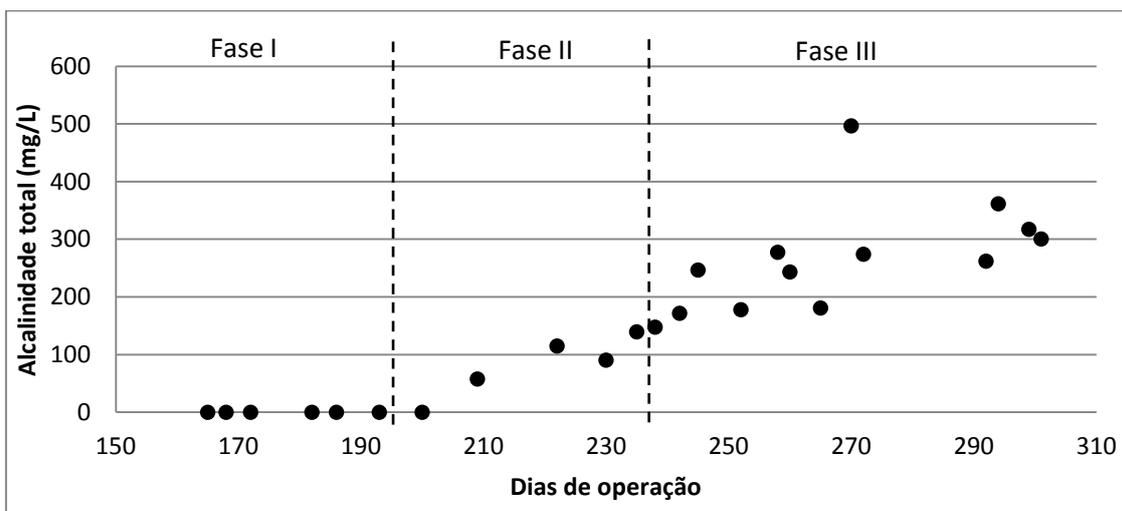


Figura 26 - Valores de alcalinidade medidos em RL nas fases I, II e III.

Fonte: produção do próprio autor.

Da mesma forma que os itens anteriores, a concentração de alcalinidade na fase I de operação é nula, indicando mais uma vez inatividade das BRS em pH 3,0. Já entre as fases I e II e II e III tem-se uma constante elevação do valor observado, sendo que as bactérias foram favorecidas pela elevação do pH, como já discutido anteriormente. Fato esse por ser mais bem observado na Tabela 18.

Tabela 18 - Valores de alcalinidade e seus desvios.

Fase (nº amostras)	Alcalinidade (mg/L)	Desvio padrão
I <sup>(9)</sup>	0,00	0,00
II <sup>(7)</sup>	100,65	34,93
III <sup>(13)</sup>	266,07	93,67

Fonte: produção do próprio autor.

Os elevados desvios verificados, principalmente na fase III, se devem as fases de transição entre as fases e adaptação do meio dentro de cada uma delas. A fim de permitir melhor avaliação da interferência do pH, tem-se a Figura 27.

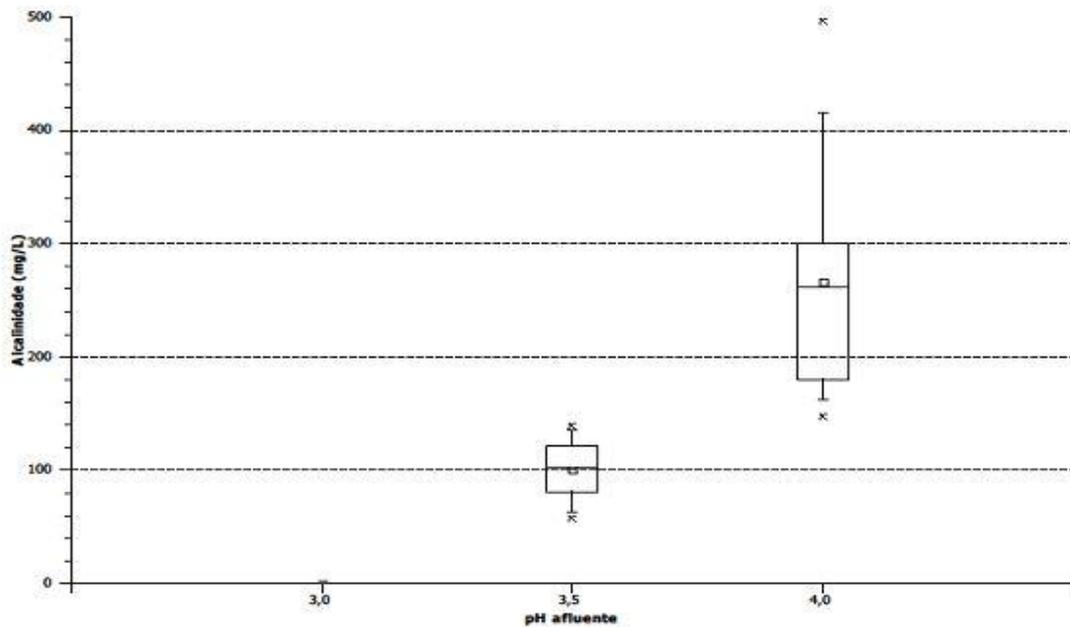


Figura 27 - Influência do pH afluente na produção de alcalinidade em RL nas fases I, II e III – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

As representações em Box Plot e o resultado da ANOVA entre as fases reforçam que há o benefício das alterações do pH ao sistema, mesmo considerando os desvios

Mesmo sem o aumento da produção de alcalinidade, observa-se uma elevação do pH afluente, sendo esse fruto da redução da produção de ácidos, a serem detalhados adiante.

#### 5.1.6 Ácidos voláteis em RE e RL

As concentrações de ácidos voláteis obtidas no efluente de RE estão expostas na Figura 28.

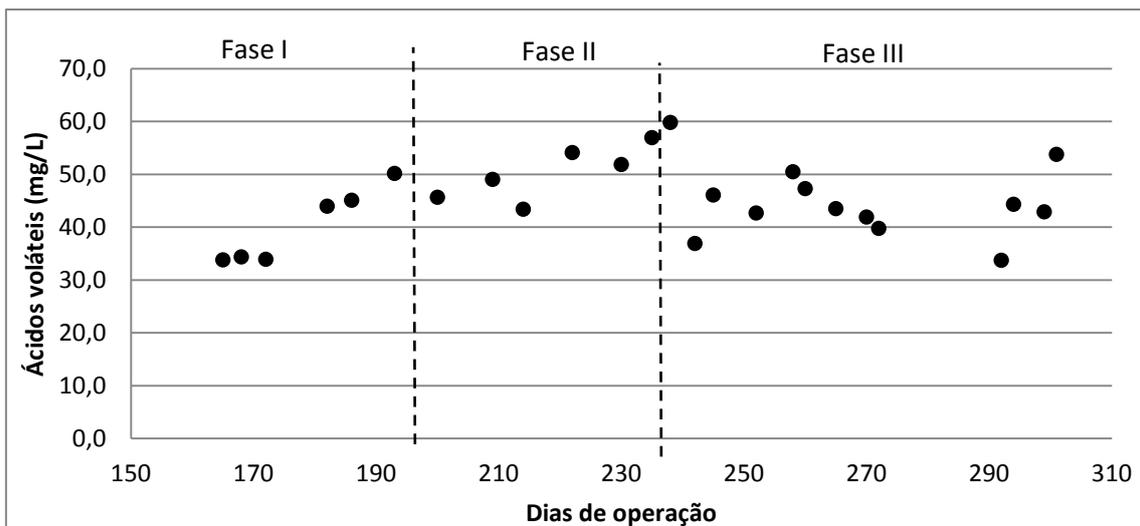


Figura 28 - Valores de ácidos voláteis medidos em RE nas fases I, II e III.

Fonte: produção do próprio autor.

Os valores médios para cada fase bem como seus desvios estão apresentados pela Tabela 19.

Tabela 19 - Valores de ácidos voláteis medidos em RE.

Fase (n <sup>o</sup> amostras)	Ác. Voláteis (mg/L)	Desvio padrão
I <sup>(9)</sup>	40	7
II <sup>(7)</sup>	50	5
III <sup>(13)</sup>	45	7

Fonte: produção do próprio autor.

A Figura 28 apresenta a variação da concentração de ácidos voláteis em função das fases de operação, onde é possível verificar uma fase inicial de adaptação do sistema, como uma crescente na formação de ácidos, e nas duas fases seguintes uma variação aleatória em torno de um padrão de estabilidade. Tal variação se dá devido a medição pelo método de titulação que, principalmente em casos de soluções tamponadas, envolve incertezas consideráveis (observadas pelo desvio padrão). Porém, vê-se que, após um período de transição entre as fases não há uma intensa relação entre o pH afluente e a produção dos ácidos.

A Figura 29 expõe uma representação estatística dos dados observados.

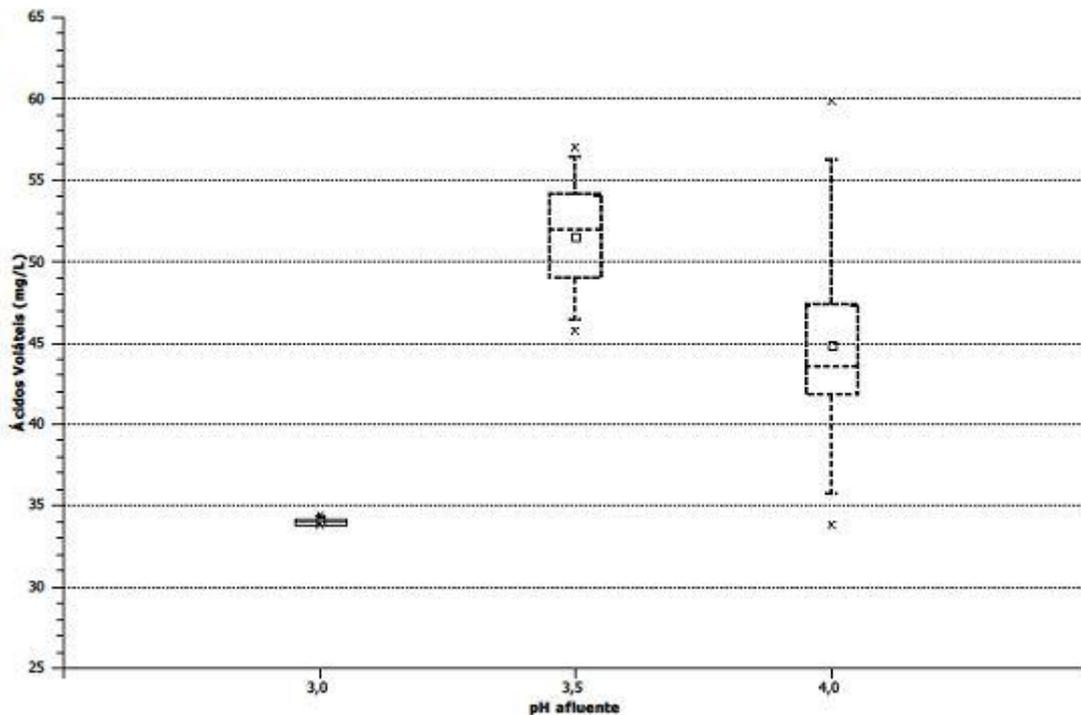


Figura 29 - Interferência do pH na produção de ácidos voláteis em RE nas fases I, II e III – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

A Figura 29 apresenta uma diferença estatística entre as fases I e II pelo fato de que a fase inicial de transição é considerada na análise, reduzindo assim o valor médio observado e diferenciando-a das demais. Uma visão mais geral permite verificar que essa discrepância não está relacionado a alteração do pH, mas sim ao período de transição. Já as fases II e III se mostram estatisticamente segundo a análise de variância aplicada, sendo que a divergência aparente entre os grupos é resultado das imprecisões do processo de titulação.

Como já mostrado nos itens anteriores, a resposta do reator alimentado com lactato é muito mais sensível a mudança de pH do que RE, sendo que os resultados de ácidos voláteis apresentam-se na Figura 30.

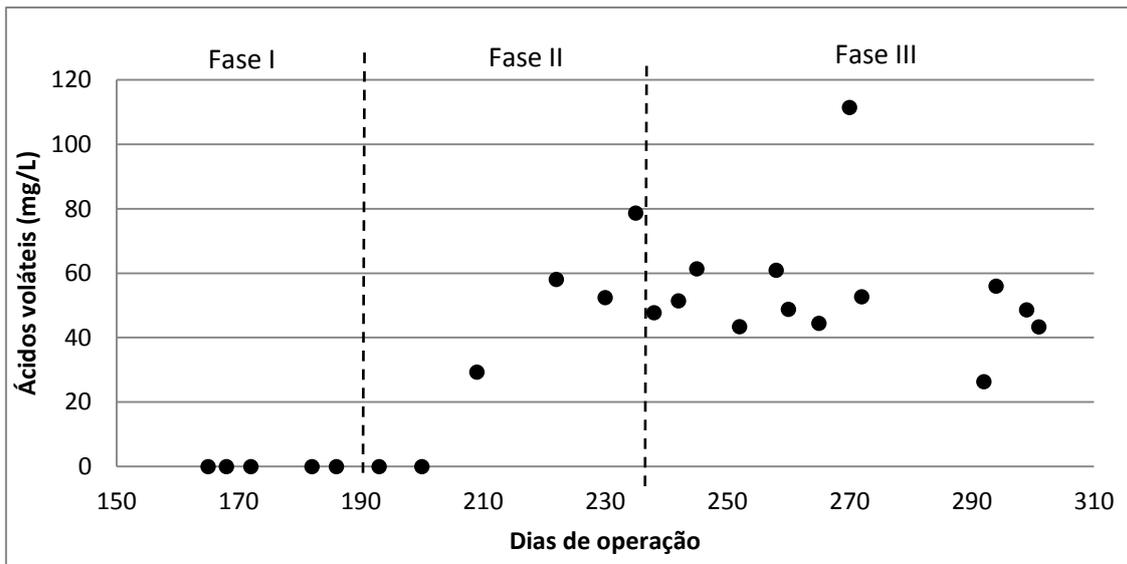


Figura 30 - Valores de ácidos voláteis medidos em RL nas fases I, II e III.

Fonte: produção do próprio autor.

Novamente a primeira fase e o início da segunda demonstram a passagem de um estado inativo para o ativo das sulfetogênicas. Entre as fases II e III tem-se uma grande elevação dos ácidos observados em relação a fase I, indicando que os organismos em atividade são predominantemente do tipo oxidativas incompletas, que levam a DQO e o sulfato à acetato.

Essa hipótese é reforçada quando os dados de gases são observados, pois a concentração de  $\text{CO}_2$  se encontra baixa até a fase III,

Os dados de média e desvio de cada uma das fases estão presentes na Tabela 20.

Tabela 20 - Valores de ácidos voláteis e seus desvios.

Fase (n ° amostras)	Ac. voláteis (mg/L)	Desvio padrão
I <sup>(9)</sup>	0,00	0,00
II <sup>(7)</sup>	54,64	20,29
III <sup>(13)</sup>	53,60	19,55

Fonte: produção do próprio autor.

Mais uma vez os desvios observados retratam as mudanças devidas a adaptação do meio as novas condições impostas. Os valores médios demonstram o salto inicial entre as duas primeiras fases e uma estabilidade entre as fases II e III. Na Figura 31 tem-se a representação em Box plot.

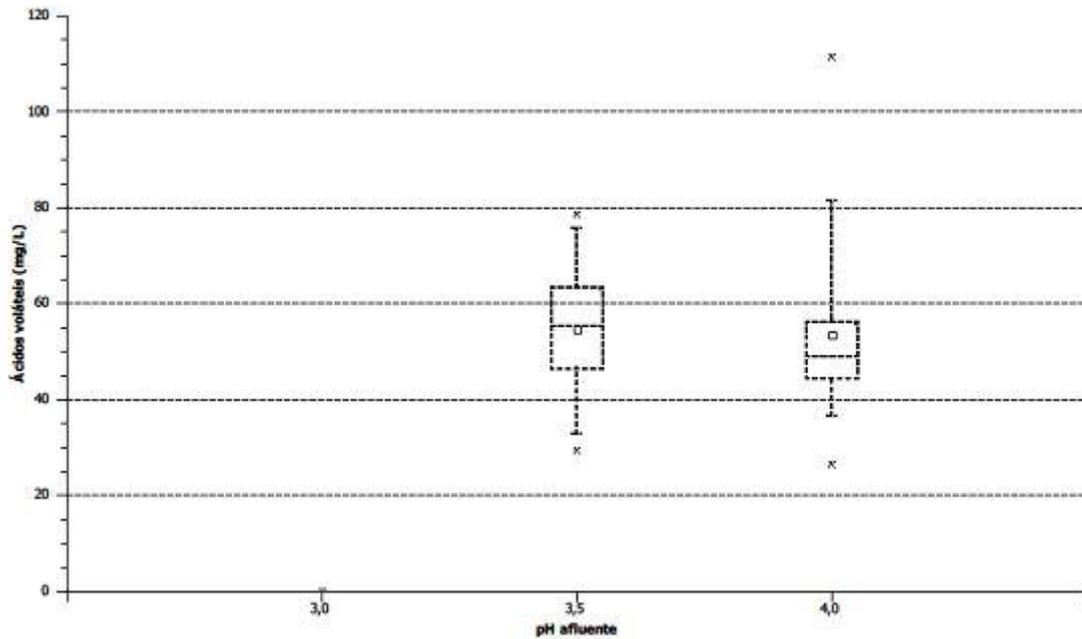


Figura 31 - Influência do pH afluente na produção de ácidos voláteis em RL nas fases I, II e III – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Como já explicado, os valores referentes ao pH 3,5 de valor zero são referentes ao processo de transição entre as fases I e II. Os dados entre as fases II e III apresentam certa continuidade, com variações decorrentes da estabilização das fases. Sendo que, tanto o ganho inicial com a elevação do pH (transição entre I e II) quanto a estabilidade entre as fases II e III foram comprovadas através da representação em Box Plot e a ANOVA.

### 5.1.7 Ácidos orgânicos em RE e RL

As concentrações de ácidos orgânicos obtidas no efluente de RE estão dispostas na Figura 32.

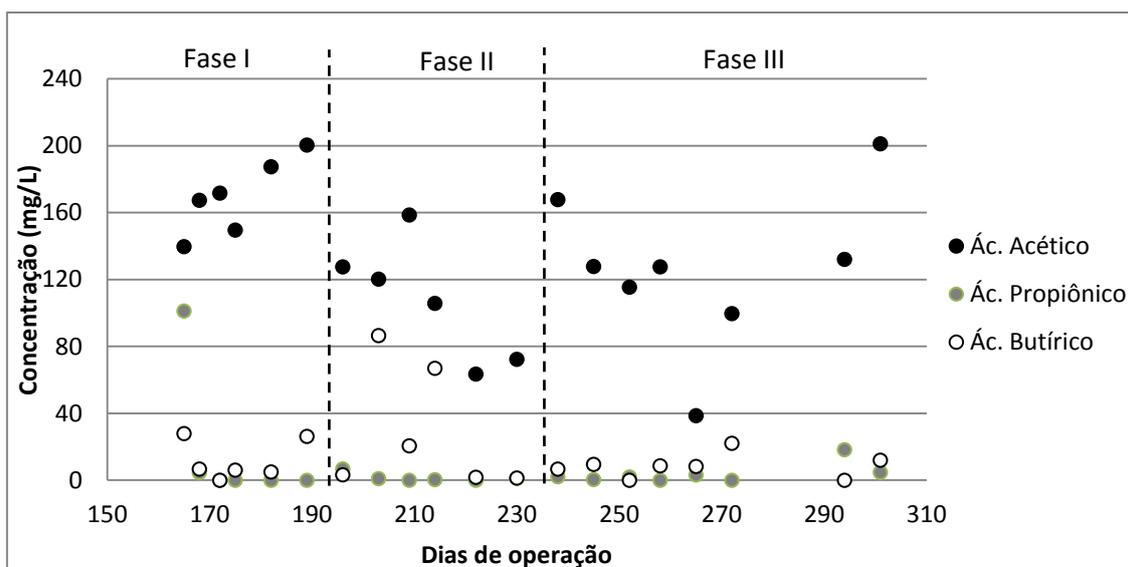


Figura 32 - Valores de ácidos orgânicos medidos em RE nas fases I, II e III.

Fonte: produção do próprio autor.

As concentrações médias em cada fase e os respectivos desvios podem ser observadas na Tabela 21.

Tabela 21 - Valores de ácidos orgânicos e seus desvios.

Fase (n <sup>o</sup> amostras)	Ác. Acético		Ác. Propiônico		Ác. Butírico	
	Média (mg/L)	Desvio padrão	Média (mg/L)	Desvio padrão	Média (mg/L)	Desvio padrão
I <sup>(9)</sup>	163	26	16	37	11	11
II <sup>(7)</sup>	104	38	0,5	0,5	35	39
III <sup>(13)</sup>	116	39	3,7	6,5	8	7

Fonte: produção do próprio autor.

Os dados contidos na Tabela 21 deixam claro que as concentrações dos ácidos propiônico e butírico são muito baixas, não tendo assim muita relevância para a análise. Os altos valores de desvio padrão associados à esses gases são decorrentes de picos em ocasiões pontuais na operação.

Assim sendo, a Figura 33 se dedica a avaliar as interferências do pH somente na produção de ácido acético.

As etapas aqui avaliadas apresentam grandes valores de desvio padrão, indicando assim imprecisão nas análises. Tal fato pode ser devido ao armazenamento das amostras, uma vez que as mesmas eram reservadas por

semanas até ser realizada a medição. Durante esse tempo existe o processo de congelamento e descongelamento dos frascos e manipulação da solução com sua passagem por diferentes vidrarias. Esses fatos, juntamente com as alterações do sistema, explicam a aparente “desordem dos dados”.

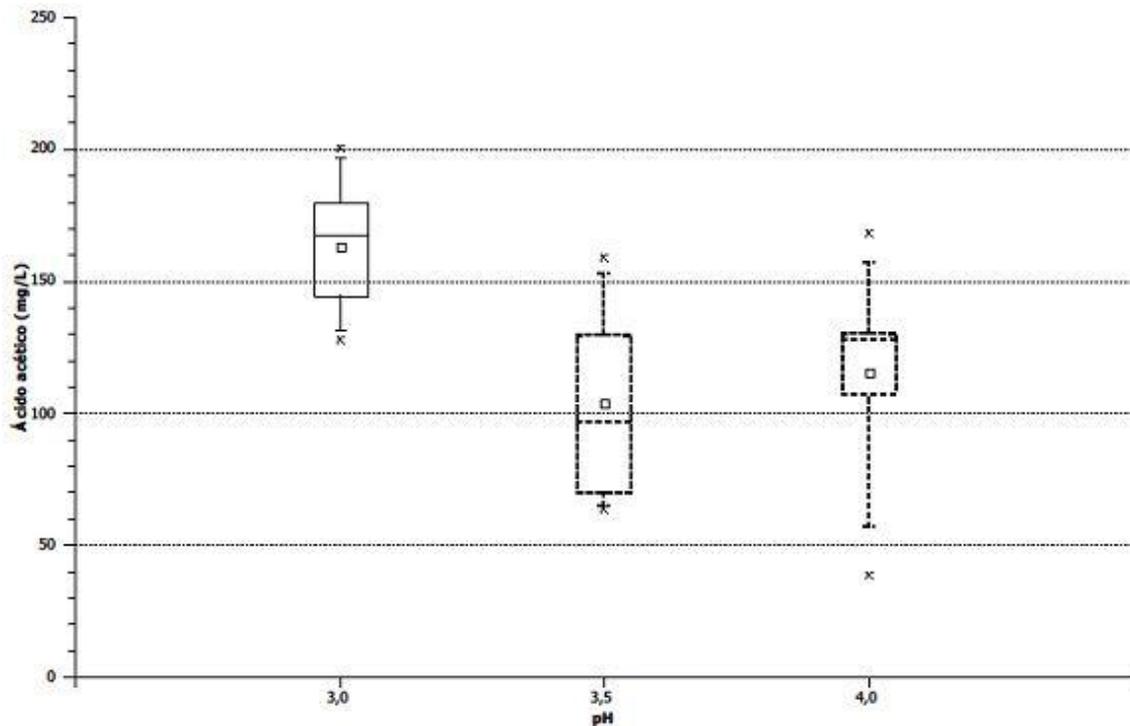


Figura 33 - Influência do pH afluente na formação de ácido acético em RE nas fases I, II e III – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Apesar das diferenças estatísticas apresentadas pelas representações em Box Plot devido aos altos valores de desvio padrão associados, pelas razões já expostas, a análise da interferência dos parâmetros na produção de ácido fica dificultada. Outro fator que teve muita interferência na análise foi um ponto com uma concentração muito baixa (dia 265 de operação), provavelmente fruto de um momento pontual na operação ou erro na medida, o que resultou na redução do valor médio da fase III e modificou o panorama da tendência.

No entanto, observando principalmente a Figura 33, pode-se verificar que o pH não possui grande interferência nesse parâmetro, sendo os valores encontrados próximos e com grandes desvios, como já dito.

Já com respeito aos ácidos orgânicos encontrados em RL, tem-se a Figura 34.

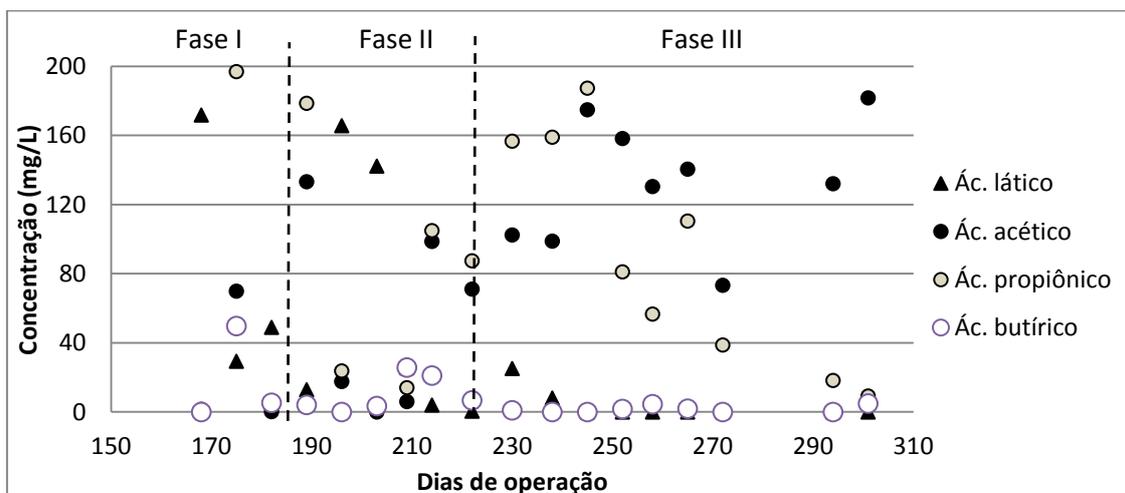


Figura 34 - Valores de ácidos orgânicos medidos em RL nas fases I, II e III.

Os valores de média e desvio para cada um dos ácidos nas fases testadas se encontram na Tabela 22.

Tabela 22 - Valores de ácidos orgânicos e seus desvios.

Fase	Ác. Lático		Ác. Acético		Ác. Propiônico		Ác. Butírico	
	Média (mg/L)	Desvio padrão	Média (mg/L)	Desvio padrão	Média (mg/L)	Desvio padrão	Média (mg/L)	Desvio padrão
I <sup>(9)</sup>	85,8	76,9	44,2	57,4	80,8	98,3	11,8	15,2
II <sup>(7)</sup>	39,5	58,6	55,7	49,6	73,6	64,0	11,6	11,1
III <sup>(13)</sup>	1,2	3,1	129,8	34,4	93,1	62,7	1,2	1,7

Fonte: produção do próprio autor.

Como pode ser visto pela Figura 34, as concentrações do ácido láctico e butírico não apresentam grande relevância nessa análise devido aos baixos valores encontrados durante a operação. Sendo assim, os ácidos produzidos e acumulados em maior quantidade foram o acético (produto das BRS de oxidação incompleta) e o propiônico, provavelmente decorrente da fermentação do lactato através da equação 8 ( $\Delta G^\circ = -171 \text{ kJ}$ ), como também observado por PIMENTA, 2014.



A hipótese da presença de microrganismos fermentativos competindo pelo substrato nas primeiras fases ganha força através dos gases medidos. Isso porque as concentrações de ácido propiônico se relacionam com a do  $\text{CO}_2$  no início da operação, indo de acordo com a equação 8. Quando as concentrações de ácido propiônico se encontram muito baixas nas duas fases finais, o  $\text{CO}_2$  é resultado a atividade das BRS de oxidação completa. O enfraquecimento das fermentativas durante as primeiras fases se deu pelo aumento do pH ocorrido nas fases II e III.

A Figura 35 apresenta os resultados especificamente do ácido acético, sendo esse o de maior importância para avaliar a atividade da BRS.

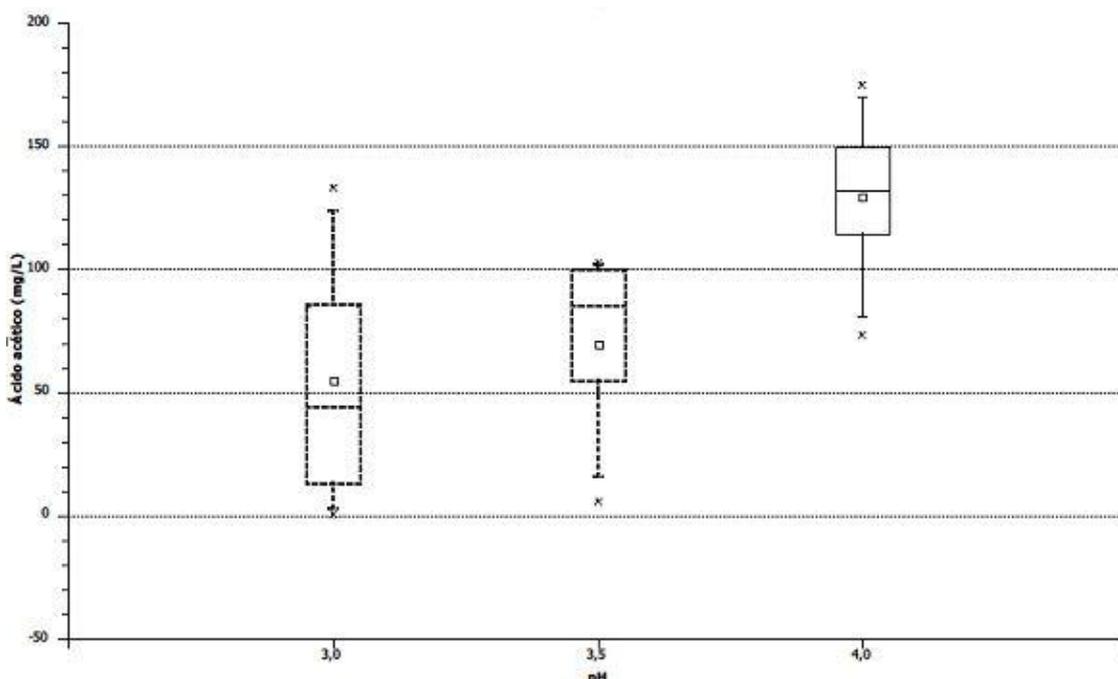


Figura 35 - Influência do pH afluyente na produção de ácido acético em RL – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Como ocorrido em itens anteriores, a fase I de operação apresenta pontos extremos decorrentes do mau controle de pH na alimentação por problemas no equipamento. Como a medida de ácidos foi realizada em apenas algumas amostras, o verdadeiro comportamento foi mascarado, sendo que os primeiros resultados se concentram próximos de zero. Esse problema de operação resultou em diagnóstico errado da ANOVA, sendo que há ganho no sistema com a elevação do pH de 3,0 para 3,5.

A exemplo do verificado anteriormente, tem-se pontos no início da fase II que refletem uma etapa de adaptação das BRS a um pH mais elevado, sendo que esses valores não retratam o comportamento do parâmetro na fase. Entre as fases II e III houve o aumento de ácido acético devido a atividade das BRS de oxidação incompleta e enfraquecimento das fermentativas, como discutido no item anterior.

### 5.1.8 Produção de gases em RE e RL

As concentrações de  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  e  $\text{H}_2\text{S}$  produzidas por RE estão dispostas na Figura 36.

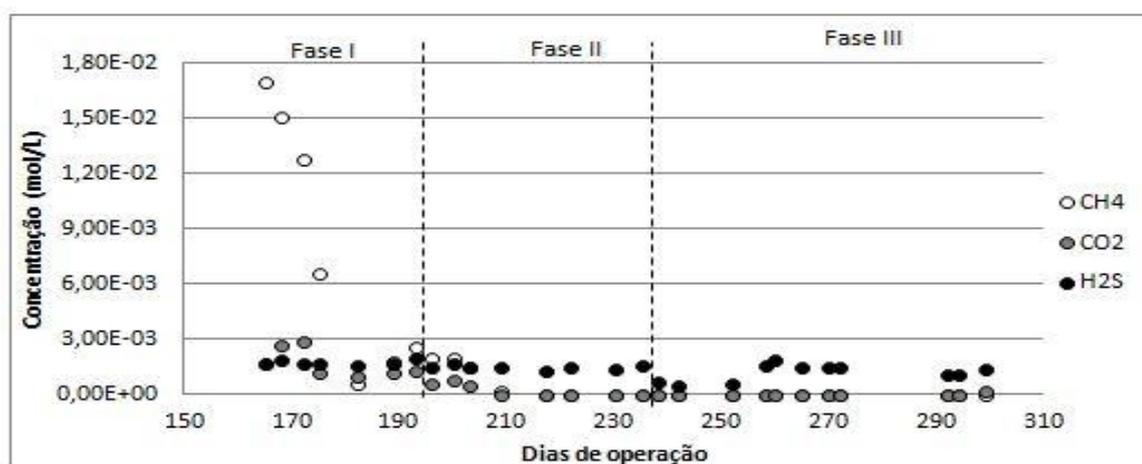


Figura 36 - Valores de gases medidos em RE nas fases I, II e III.

Fonte: produção do próprio autor.

Os valores médios para cada fase bem como seus desvios estão apresentados pela Tabela 23.

Tabela 23 - Valores médios dos gases e seus desvios.

Fase (nº amostras)	CH4		CO2		H2S	
	Média (mol/L)	Desvio padrão	Média (mol/L)	Desvio padrão	Média (mol/L)	Desvio padrão
I <sup>(9)</sup>	7,34E-03	6,67E-03	1,54E-03	8,30E-04	1,72E-03	1,51E-04
II <sup>(7)</sup>	5,42E-04	8,68E-04	1,71E-04	3,07E-04	1,50E-03	1,11E-04
III <sup>(13)</sup>	0,00	0,00	1,36E-05	4,51E-05	1,20E-03	4,65E-04

Fonte: produção do próprio autor.

O primeiro fator que chama atenção nos dados apresentados é a redução da concentração de metano até sua inexistência a partir da fase III, indicando um declínio na atividade das arqueias metanogênicas, visto que o  $\text{CH}_4$  é seu produto metabólico. Isso decorre do ambiente inapropriado para esses organismos (pH muito ácido e relação DQO/Sulfato baixa) e sua competição com as BRS pelo substrato. Como as condições foram estabelecidas a fim de favorecer as bactérias redutoras de sulfato, o reator se tornou essencialmente sulfetogênico.

Para melhor avaliar o comportamento dos outros dois gases, devido a escala, tem-se a Figura 37.

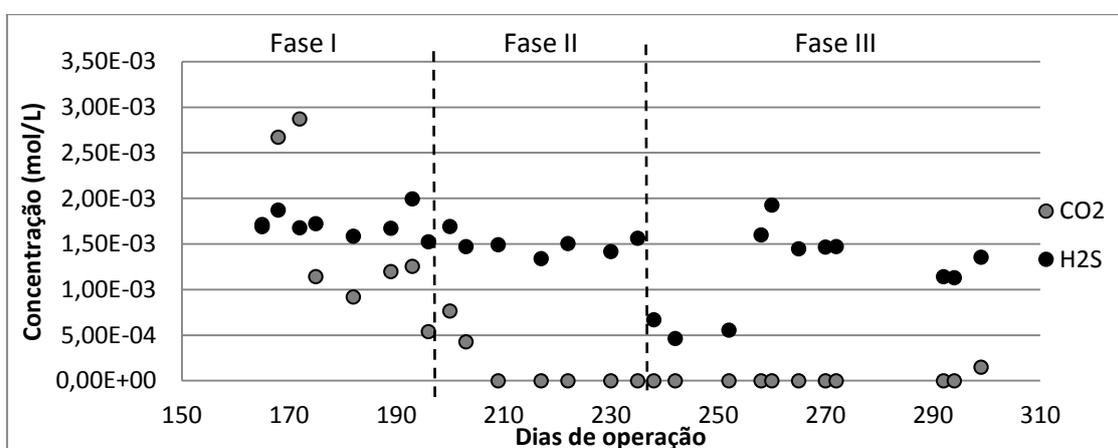


Figura 37 - Concentrações dos gases  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{S}$  medidos em RE nas fases I, II e III.

Fonte: produção do próprio autor.

Tratando especificamente do  $\text{H}_2\text{S}$ , indicador da atividade sulfetogênica, tem-se a Figura 38.

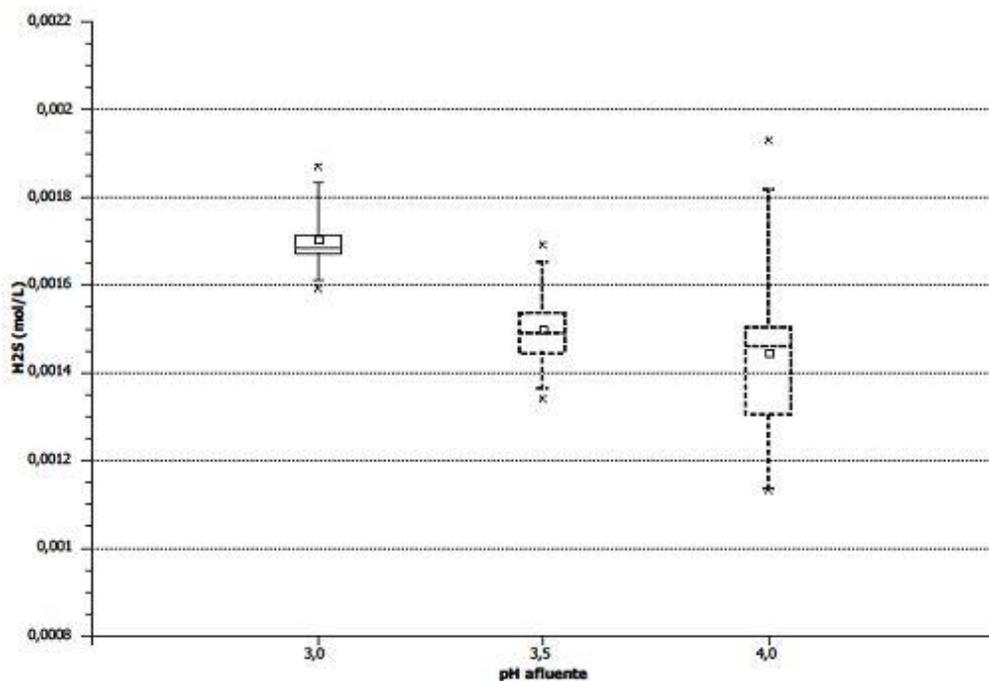


Figura 38 - Interferência do pH na produção de H<sub>2</sub>S em RE nas fases I, II e III – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Por meio dos dados expostos vê-se que o aumento inicial do pH de 3,0 para 3,5 causou uma redução de concentração na fase II, sendo que entre as fases II e III não houve uma diferença estatística, como visualizado na Figura 38. No entanto, a representação da Figura 37 demonstra que não existe tendência clara de crescimento ou decréscimo da concentração, apesar de alguns pontos se encontrarem pouco deslocados. Os dados referentes aos valores de pH menos ácidos (4,0) indicam uma menor concentração de H<sub>2</sub>S muito provavelmente devido a forma de sulfeto encontrada (Figura 1).

As concentrações de gases verificadas em RL estão presentes na Figura 39.

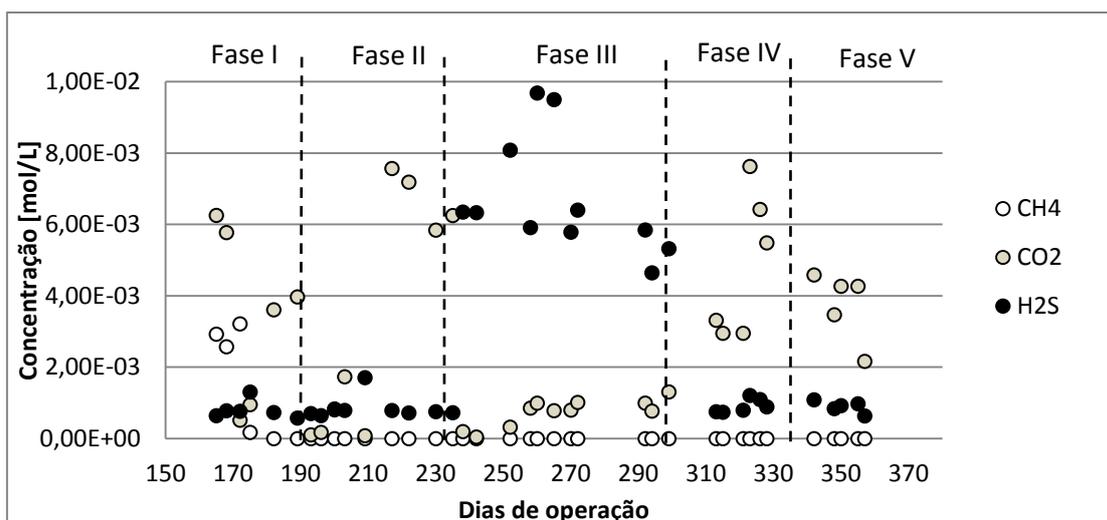


Figura 39 - Valores de gases medidos em RL nas fases I, II e III.

Fonte: produção do próprio autor.

Inicialmente, fica claro pelos dados apresentados que na fase I ainda havia produção de metano em RL, ou seja, indica a presença das arqueias metanogênicas. No entanto, nas fases seguintes esse gás não é mais observado, indicando um ambiente sulfetogênico.

Com relação ao gás carbônico, esse pode ser resultado da ação de fermentativas em um primeiro momento (até a fase III).

No caso do tratamento de DAM utilizando BRS, obviamente o gás de maior interesse é o  $H_2S$ , indicativo da atividade desses organismos. Se tratando desse gás, pode-se verificar que há um grande pulso de sua concentração na fase III e, nas fases seguintes um intenso decréscimo, contrariando assim a hipótese de maior atividade das BRS.

Os valores médios e seus desvios estão apresentados pela Tabela 24.

Tabela 24 - Valores médios dos gases e seus desvios.

Fase	CH4		CO2		H2S	
	Média (mol/L)	Desvio padrão	Média (mol/L)	Desvio padrão	Média (mol/L)	Desvio padrão
I <sup>(9)</sup>	1,11E-03	1,50E-03	2,67E-03	2,55E-03	7,70E-04	2,28E-04
II <sup>(7)</sup>	0	0	4,22E-03	3,20E-03	9,01E-04	3,58E-04
III <sup>(13)</sup>	0	0	7,36E-04	3,87E-04	6,72E-03	1,65E-03

Fonte: produção do próprio autor.

Os valores médios apresentados indicam claramente o decréscimo da atividade das metanogênicas, a oscilação dos valores de gás carbônico na fase III e o salto de concentração de  $H_2S$  na fase III.

A influência do pH na produção de  $H_2S$  (de maior interesse) está retratada na Figura 40.

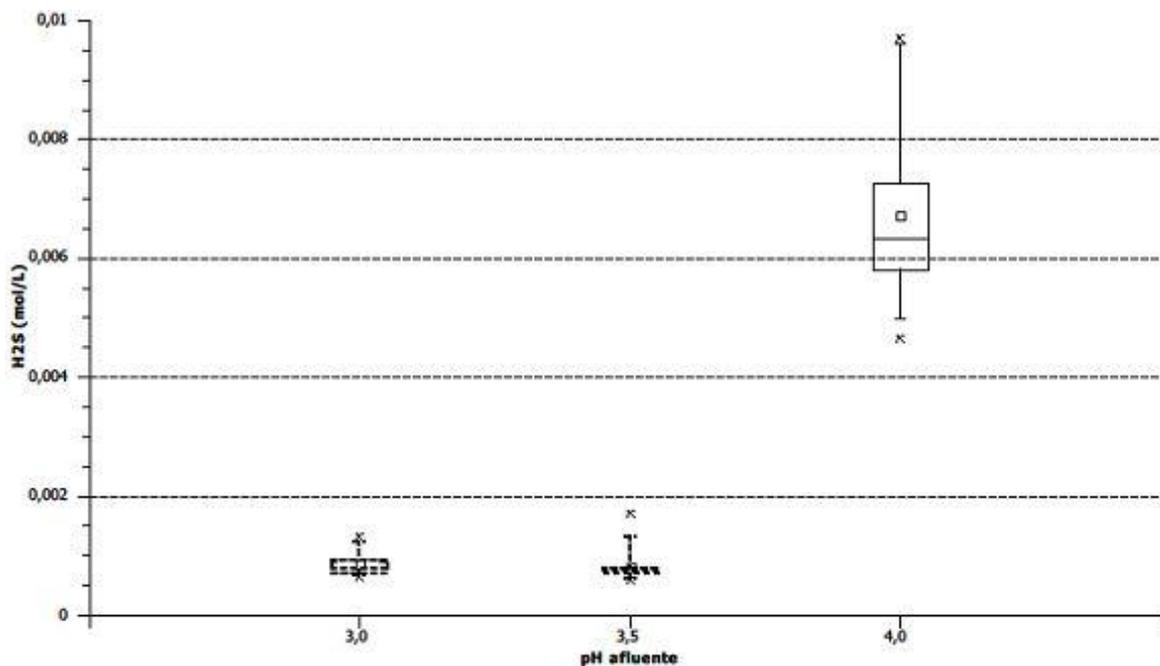


Figura 40 - Interferência do pH na produção de  $H_2S$  em RL nas fases I, II e III – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

A Figura 40 somente reforça os fatos já indicados e discutidos. Através dos baixos desvios verificados nas fases I e II indicam uma grande constância e coesão nos dados. Já a III indica uma fase de transição e com valores bem mais elevados devido a forma do sulfeto e da passagem de um momento das BRS de menor atividade (I e II) para um de maior (III).

#### 5.1.9 Remoção de metais em RE e RL

A Figura 41 apresenta os valores de remoção de Fe, Cu e Zn observados durante o tempo de operação em RE.

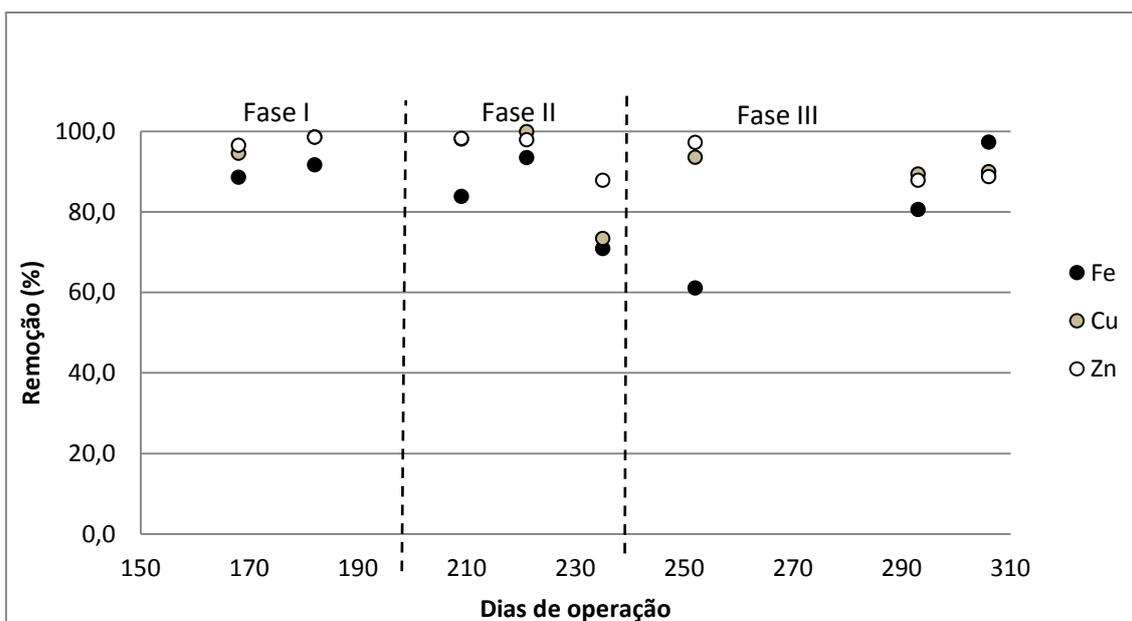


Figura 41 - – Porcentagens de remoção dos metais em RE nas fases I, II e III.

Fonte: produção do próprio autor.

Os valores médios e os desvios dos dados da Figura 41 estão expostos na Tabela 25.

Tabela 25 – Valores médios de remoção de metais e seus desvios.

Fase (n amostras)	Fe		Cu		Zn	
	Rem. (%)	Desvio padrão	Rem. (%)	Desvio padrão	Rem. (%)	Desvio padrão
I <sup>(2)</sup>	90,2	2,2	96,6	2,9	97,6	1,4
II <sup>(3)</sup>	82,8	11,3	90,5	14,8	94,7	5,9
III <sup>(2)</sup>	70,9	13,8	91,5	2,9	92,6	6,6

Fonte: produção do próprio autor.

Pelo comportamento e valores observados na Figura 41 e Tabela 25 tem-se que o mais sensível as condições de operação entre os metais avaliados é o ferro, muito devido a sua mudança de forma de acordo com o pH, podendo se dizer que a remoção de ferro em RE foi prejudicada pelas alterações propostas, sendo que ao fim da fase III tem-se uma queda mais acentuada, como esperado devido a menor atividade das BRS. Os valores de remoção observados para Cu e Zn não diferem muito, estando sempre acima dos 90%.

No caso de RL, os valores de remoção de metais observados são os expostos na Figura 42.

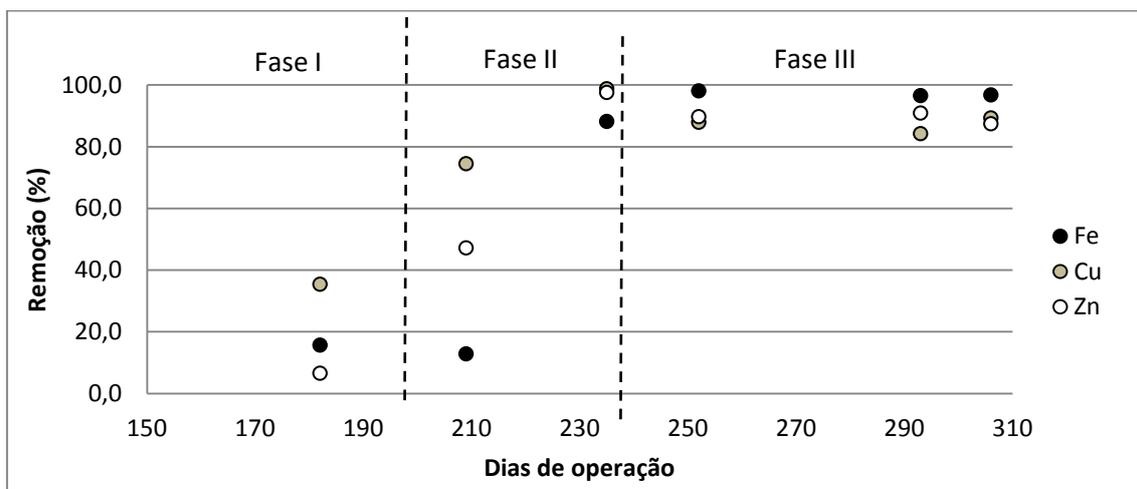


Figura 42 - Porcentagens de remoção dos metais em RL nas fases I, II e III.

Fonte: produção do próprio autor.

A Tabela 26 apresenta as remoções médias de Fe, Cu e Zn e seus desvios.

Tabela 26 - remoções médias de Fe, Cu e Zn e seus desvios.

Fase (n amostras)	Fe		Cu		Zn	
	Rem. (%)	Desvio padrão	Rem. (%)	Desvio padrão	Rem. (%)	Desvio padrão
I <sup>(1)</sup>	15,8	0,0	35,5	0,0	6,6	0
II <sup>(2)</sup>	50,6	53,3	86,7	17,2	72,4	35,6
III <sup>(2)</sup>	97,4	1,1	86,1	2,6	90,4	0,8

Fonte: produção do próprio autor.

Por meio dos valores expostos e do comportamento observado na Figura 42, pode-se observar que inicialmente não há, remoção de metais por meio da atividade das BRS (fases I e II), como era de se esperar, e que as modificações realizadas foram favoráveis para essa remoção, alcançando na fase III elevados valores de remoção para os três metais avaliados.

### 5.1.10 Considerações sobre a influencia do pH em RE e RL

A Tabela 27 sintetiza os resultados obtidos para os dois reatores testados durante as fases I, II e III.

Tabela 27 - Variações no pH e seus efeitos em RE e RL entre as fases I e III.

Parâmetro (efeito desejado)	RE		RL	
	Fase I para II	Fase II para III	Fase I para II	Fase II para III
Rem. de DQO (aumento)	=	-	+	=
Rem. de Sulfato (aumento)	=	=	+	=
Prod. de Sulfeto (aumento)	=	=	+	=
Prod. de Alcalinidade (aumento)	=	=	+	+
pH efluente (aumento)	=	=	+	+
Prod. de ác. acético (redução)	+	=	-	-
Prod. de Ac. Vol. (redução)	=	=	-	-
Prod. de H <sub>2</sub> S (aumento)	-	=	=	+
Rem. de Fe (aumento)	=	-	+	+
Rem. de Cu (aumento)	=	=	+	=
Rem. de Zn (aumento)	=	=	+	+

(=) Estatisticamente igual (ANOVA) ou não há tendência clara.

Fonte: produção do próprio autor.

Com a análise da Tabela 27 pode se dizer que para RE, as alterações no pH, com exceção da produção de ácido acético, os efeitos foram nulos ou prejudiciais ao sistema. Ou seja, o sistema mostra grande robustez quando ao pH afluente devido muito pelo tamponamento pelo ácido acético e a facilidade de degradação do substrato. Os efeitos negativos, quando observados, não possuem grande intensidade, não causando grandes variações na qualidade do efluente.

Sendo assim, para o caso do reator alimentado com etanol a elevação do pH em sua entrada não é favorável ao tratamento, sendo quem em casos de DAM muito ácidas o gasto para elevação dentro dessa faixa é desnecessário e não recomendado.

No que diz respeito a RL, as alterações no pH foram altamente interessantes para o sistema, tendo como únicos pontos negativos a maior produção de ácidos. Fato esse ocorre pois inicialmente a atividade das BRS, se existente, era muito baixa, sendo que não havia a produção de ácido acético pelas BRS oxidativas incompletas, ou seja, a maior produção desse composto retrata a maior atividade os organismos, que são de interesse, no reator.

Com isso tem-se que o aumento do pH afluente foi fator determinante para que o tratamento em RL acontecesse de maneira satisfatória.

## 5.2 Efeito da relação DQO/Sulfato

### 5.2.1 pH efluente em RE e RL

Os valores de pH no efluente de RE nas fases III, IV e V estão apresentados na Figura 43.

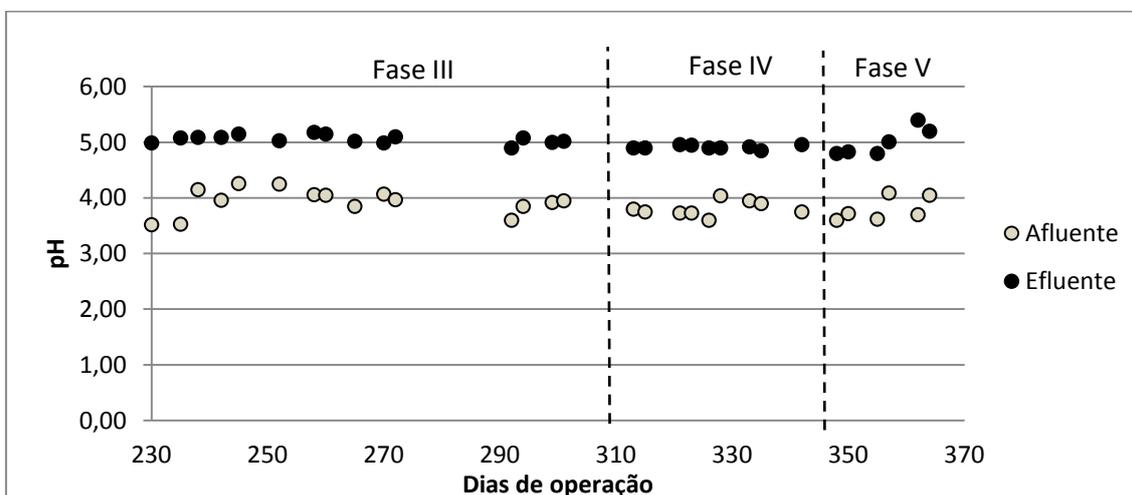


Figura 43 - Valores de pH medidos para RE nas fases III, IV e V.

Fonte: produção do próprio autor.

Por meio da Figura 43 tem-se que o reator em questão possui uma alta robustez quanto pH efluente para as relação DQO/Sulfato na faixa aqui

testadas. Os valores médios e desvios referentes a cada uma das fases estão dispostos na Tabela 28.

Tabela 28 – Valores de pH efluente médio e desvios padrão.

Fase (n ° amostras)	pH aflu. Médio	Desvio padrão	pH eflu. Médio	Desvio padrão
III <sup>(13)</sup>	4,00	0,18	5,06	0,08
IV <sup>(8)</sup>	3,81	0,14	4,91	0,03
V <sup>(7)</sup>	3,79	0,20	5,00	0,23

Fonte: produção do próprio autor.

Com os baixos valores de desvios padrão obtidos pode-se dizer que não há grande variação entre as fases quanto ao pH na saída do sistema, corroborando com a hipótese de sua baixa sensibilidade na alteração desse parâmetro.

A Figura 44 apresenta uma análise estatística das diferentes fases pela ANOVA, sendo que os blocos que possuem contorno pontilhado são estatisticamente iguais segundo essa análise. Essa representação é padrão em todo o item. Os dados estão apresentados na forma de Box plot.

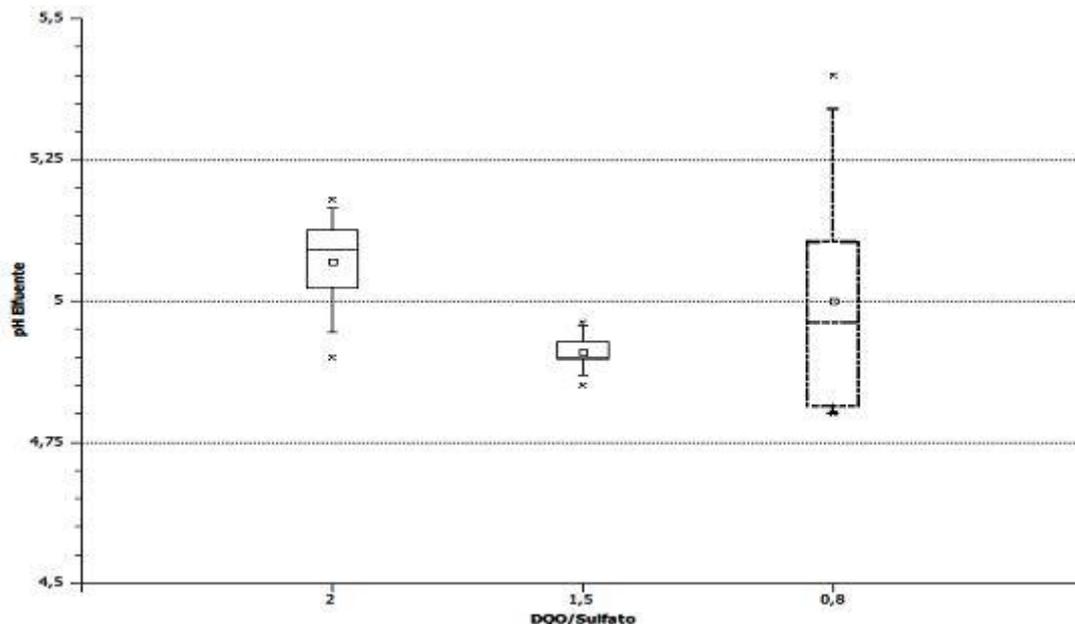


Figura 44 - Interferência da relação DQO/Sulfato no pH efluente em RE nas fases III, IV e V – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Como já discutido anteriormente, os valores de pH efluente circundam o valor de 5,0 muito devido ao acúmulo de ácidos no sistema, principalmente acético, cujo pKa é 4,75.

Com relação as taxas DQO/Sulfato testadas, pode-se afirmar que pelos valores apresentados, existe uma pequena redução do pH efluente com a diminuição da taxa de 2,0 para 1,5. Para relação 0,8, tem-se uma maior variação nos valores medidos (ainda que baixa), sendo que os dados dessa fase são estatisticamente iguais às outras duas taxas testadas. Tal variação pode ser resultado da menor produção de ácidos no sistema (itens 5.1.6 e 5.1.7), contribuindo assim para uma pequena elevação dos valores de pH.

Couto (2014) obteve em um reator em batelada alimentado com etanol, pH afluente aproximadamente 4,0 e relação DQO/Sulfato de 1,0 um pH efluente de  $6,39 \pm 0,26$ , sendo assim semelhante a fase V aqui testada. Porém, além do reator ser diferente, o lodo foi adaptado com uma redução gradual de pH, saindo de  $6,39 \pm 0,37$  para  $5,05 \pm 0,01$  e posteriormente para  $3,98 \pm 0,06$ , sendo que esse processo pode ter favorecido o desempenho das BRS, tornando-as mais adaptadas ao meio.

Com relação ao reator alimentado com lactato, o efeito de menores concentrações de DQO no afluente teve efeito contrário, como pode ser observado pela Figura 45.

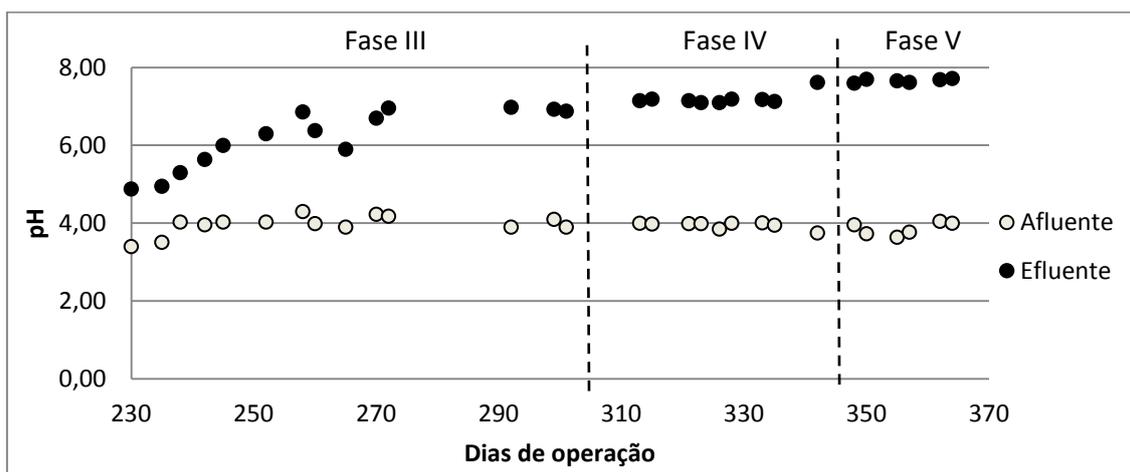


Figura 45 - Valores de pH medidos em RL nas fases III, IV e V.

Fonte: produção do próprio autor.

As médias referentes a cada uma das fases estão apresentadas na Tabela 29.

Tabela 29 - Valores de pH efluente médio e desvios padrão.

Fase (n ° amostras)	pH aflu. Médio ( $\pm 0,1$ )	Desvio padrão	pH aflu. Médio ( $\pm 0,1$ )	Desvio padrão
III <sup>(13)</sup>	4,04	0,13	6,44	0,55
IV <sup>(9)</sup>	3,97	0,05	7,15	0,04
V <sup>(7)</sup>	3,84	0,16	7,66	0,05

Fonte: produção do próprio autor.

Os dados apresentados pela Tabela 29 deixa evidente que as alterações propostas nas diferentes fases tiveram efeito positivo na elevação do pH efluente. Para melhor ilustrar essas relações têm-se a Figura 46.

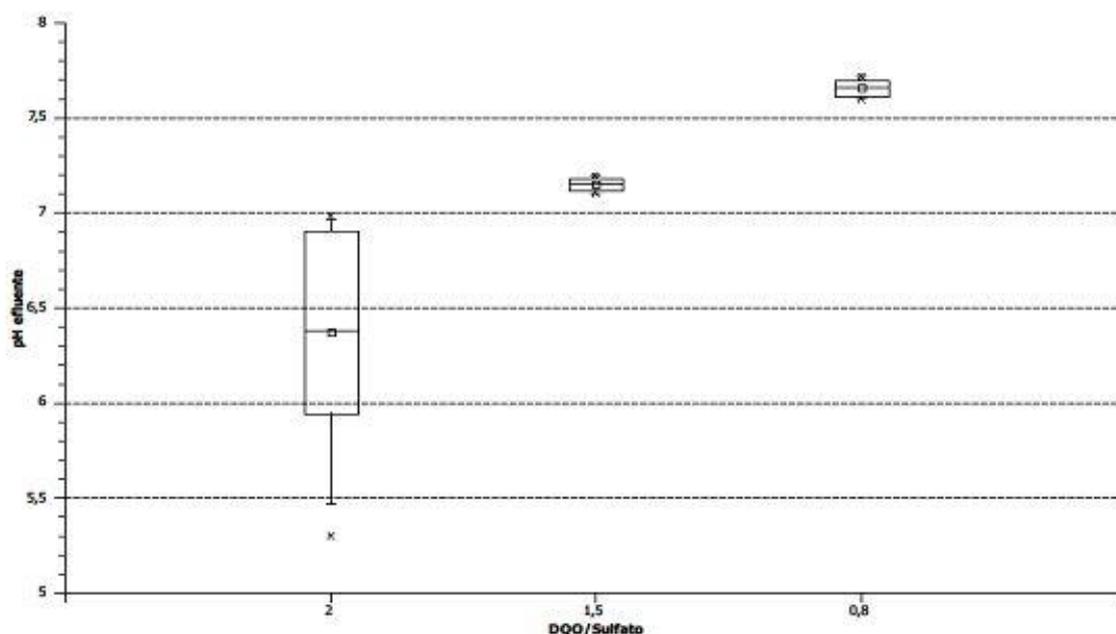


Figura 46 – Interferência da relação DQO/Sulfato no pH efluente em RL nas fases III, IV e V – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Como pode ser verificado pela Figura 46, a exemplo da elevação do pH, a redução da DQO afluente também teve efeito positivo sob o pH efluente. Com a menor disponibilidade de carbono, como já explicado, há menor produção de ácidos, tanto voláteis quanto orgânicos, resultando em uma menor acidez produzida e, obviamente, elevando o pH de saída do reator.

Os dados mais dispersos apresentados no primeiro grupo são devido a fase de adaptação do sistema a uma nova condição. Já nas últimas duas fases tem-se os dados se encontram bem mais coesos e a melhora na elevação do pH com o decréscimo da relação DQO/Sulfato é muito evidente, chegando na última fases a valores próximos de 8 (pH afluente ainda em 4,0).

### 5.2.2 DQO em RE e RL

Os valores de DQO obtidos nas fases III, IV e V no efluente de RE estão dispostos na Figura 47.

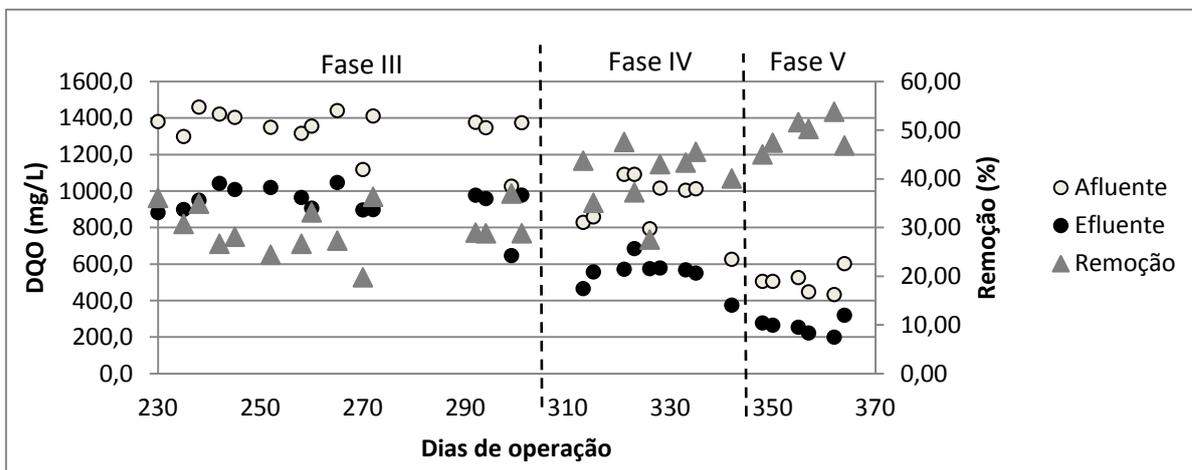


Figura 47 - Valores de DQO medidos para RE nas fases III, IV e V.

Fonte: produção do próprio autor.

Para fim de entendimento e discussão dos resultados é mais interessante a avaliação dos valores de remoção apresentados do que os valores de entrada e saída propriamente ditos devido a melhor visualização de tendências. Os valores médios de remoção da Figura 47 e seus desvios estão apresentados pela Tabela 30.

Tabela 30 - Valores de remoção de DQO e seus desvios.

Fase (n ° amostras)	Rem. Média (%)	Desvio padrão
III <sup>(13)</sup>	29	5
IV <sup>(8)</sup>	40	7
V <sup>(7)</sup>	48	5

Fonte: produção do próprio autor.

Como já explicado, existem diversos fatores que interferem no valor de DQO efluente medido e, conseqüentemente, na remoção observada. Como um dos principais desses é o acúmulo de ácidos, a figura 48 apresenta a diferença dos valores de DQO efluente considerando e desconsiderando a DQO equivalente dos ácidos orgânicos.

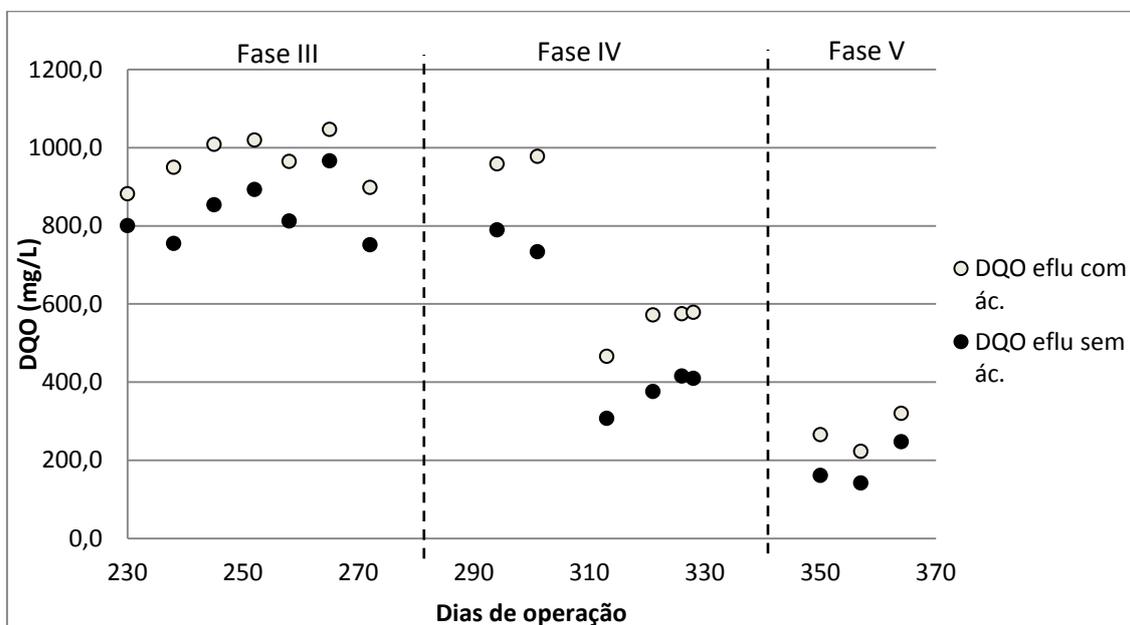


Figura 48 - Valores de DQO com e sem os ácidos orgânicos para RE nas fases III, IV e V.

Fonte: produção do próprio autor.

Os valores médios e seus desvios dos dados da Figura 49 estão apresentados pela Tabela 31.

Tabela 31 - Valores de DQO com e sem os ácidos em RE.

Fase (n <sup>o</sup> amostras)	DQO com ác.		DQO sem ác.		DQOácidos/ DQOtotal (%)
	DQO Média (mg/L)	Desvio padrão	DQO Média (mg/L)	Desvio padrão	
III <sup>(13)</sup>	979	50	832	78	15,0
IV <sup>(8)</sup>	634	198	449	165	29,2
V <sup>(7)</sup>	270	49	184	56	31,9

Fonte: produção do próprio autor.

Por meio da Figura 48 e da Tabela 31 pode-se observar que a influência da concentração de ácidos na DQO, proporcionalmente falando, é aumentada nas ultimas fases mesmo com uma menor produção de ácidos. Isso se deve a maior remoção de DQO observadas nas fases IV e V e, possivelmente, a redução da atividade das BRS de oxidação completa. Para se reduzir esse problema seria necessário um pós-tratamento visando a remoção dos ácidos orgânicos do efluente.

Couto (2014) obteve remoção de DQO aproximadamente 100% quando operava um reator batelada, TDH de aproximadamente 16 horas, com pH afluente aproximadamente 4,0 e DQO/Sulfato de 1,0 (semelhante a fase V). Esse maior desempenho em relação ao presente trabalho pode ser explicado pelo processo em batelada que pode ser mais facilmente controlado e evita o acúmulo de ácidos no sistema e pelo fato do lodo utilizado ser adaptado com uma redução gradual do pH afluente.

Rodriguez et al.. (2012) obteve uma remoção média de DQO operando um reator UASB utilizando a mesma fonte de carbono, pH aproximadamente 4,0 e DQO/Sulfato = 1 de  $67 \pm 10\%$ , sendo mais elevados dos que aqui verificados. Fato esse por ser devido a quantidade de BRS de oxidação completa no lodo, por sua menor produção de ácidos no sistema quando comparado com as incompletas. Como RE teve sua operação iniciada com pH 3,0 com Pimenta (2014) e na fase I desse trabalho, pode ser que o acúmulo de ácidos tenha sido favorecido, impactando assim no acúmulo de ácidos.

Para mais bem visualizar o efeito da redução da relação DQO/Sulfato na remoção de DQO em RE tem-se a Figura 49.

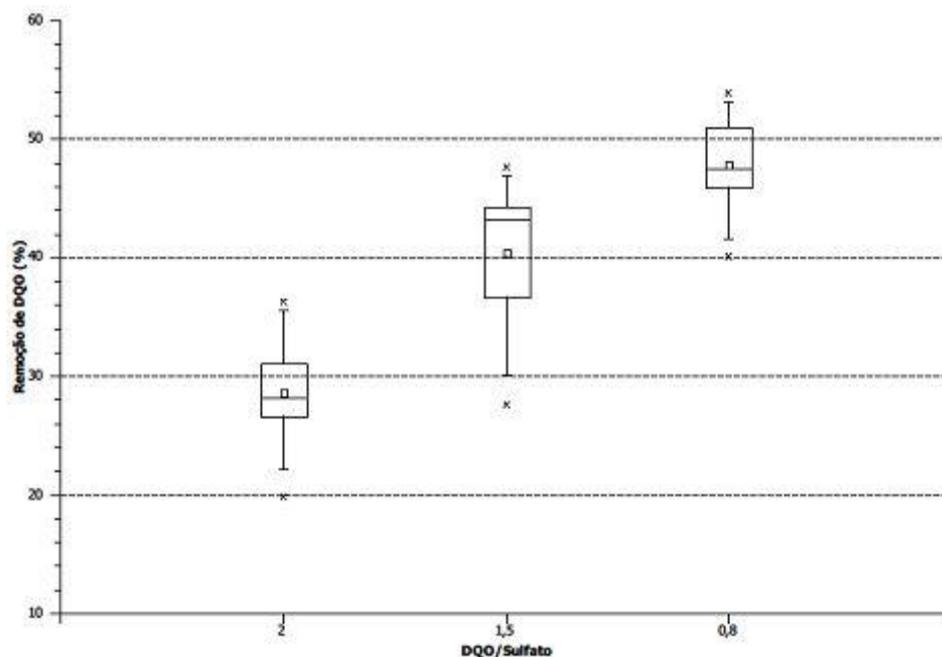


Figura 49 - Interferência da relação DQO/Sulfato na remoção de DQO em RE nas fases III, IV e V – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Há claramente um beneficiamento no sistema para remoção de DQO com as diminuições da relação DQO/Sulfato testadas. Tal fato pode ter ocorrido pela redução do acúmulo de ácidos no sistema com a menor disponibilidade de DQO (equação 6), favorecendo assim o consumo da quantidade disponível para sulfetogênese.

Velascos et al.. (2008) verificou, em um reator UASB com etanol como fonte de carbono e pH 7,0 que o aumento da relação DQO/Sulfato de 1,5 para 2,0 ocasionou em uma maior concentração de etanol efluente, sendo assim, menor eficiência na remoção de DQO. A remoção de DQO com a relação em 1,5 teve uma média de  $98 \pm 2\%$ . Esse valor elevado de remoção de DQO é provavelmente fruto do pH afluente, que reduz a energia gasta pelas bactérias para neutralizar seu pH interno e, assim, tem maior poder energético tanto para crescimento quanto para atividade metabólica (SÁNCHEZ-ANDREA et al., 2013).

Observando os valores de remoção de sulfato, produção de sulfeto e de alcalinidade é possível afirmar que houve uma redução da conversão de sulfato

para sulfeto desenvolvido pelas BRS (equação 6) quando comparadas as fases III, IV e V, sendo que a redução da DQO foi prejudicial ao sistema.

Estequiometricamente falando, para que haja etanol suficiente para converter todo o sulfato presente no meio, a relação DQO/Sulfato ideal para as BRS deve ser de 1,92 (PIMENTA, 2014). Com a redução da relação de 2,0 (fases I a III) para 1,5 (fase IV) e depois para 0,8 (fase V), a conversão do etanol pelas BRS ficou comprometida, reduzindo assim sua atividade. Como consequência, houve uma redução da concentração de sulfeto (principalmente  $H_2S$ ), produto da sulfetogênese e conhecidamente inibidor de muitos organismos. Isso possibilitou o desenvolvimento de espécies que antes se encontravam inativas, convertendo o etanol para outro produto que não sulfeto. Isso explicaria a maior redução de DQO mesmo com uma menor conversão de sulfato a sulfeto.

Essa hipótese ganha força quando observado o comportamento dos gases  $CO_2$  e  $H_2S$ , onde houve o aumento do primeiro e redução do segundo com a remoção de DQO, indicando assim a menor atividade das BRS e a degradação do etanol até  $CO_2$  por meio de organismos antes com menor representatividade. Além disso, o resultado do DGGE realizado, Figura 106, indica que houve um aumento na biodiversidade ativa no sistema com a redução da concentração de etanol.

O efeito da redução de DQO afluyente foi completamente diferente em RE, como pode ser visto por meio da Figura 50.

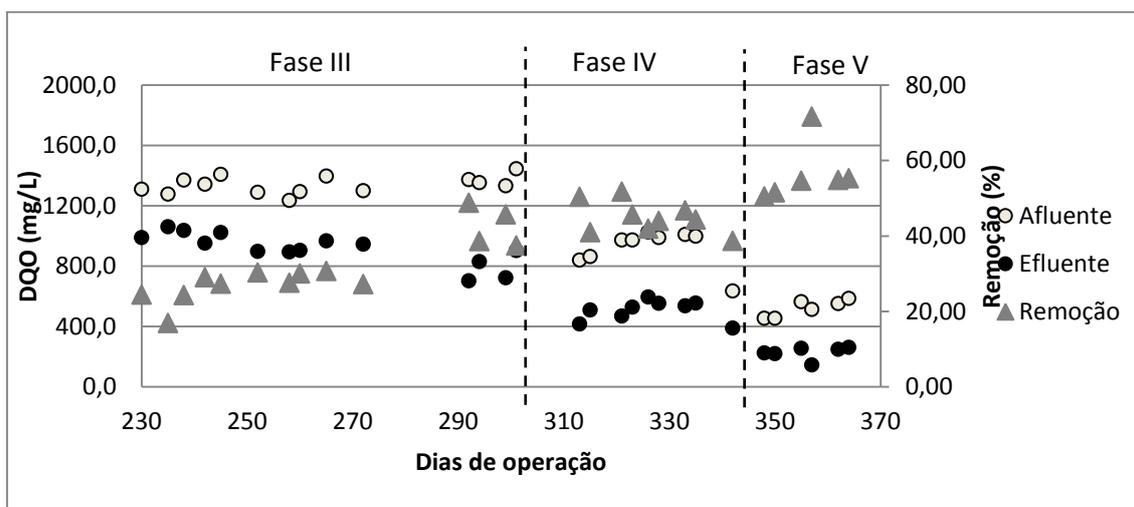


Figura 50 - Valores de DQO medidos para RL em fases III, IV e V.

Fonte: produção do próprio autor.

As remoções médias de cada fase e os respectivos desvios encontram-se na Tabela 32.

Tabela 32 - Valores de remoção de DQO e seus desvios.

Fase (n ° amostras)	Rem. Média (%)	Desvio padrão
III <sup>(13)</sup>	33	8
IV <sup>(9)</sup>	46	4
V <sup>(7)</sup>	54	10

Fonte: produção do próprio autor.

Novamente, a fim de se observar a interferência dos ácidos na medida de DQO na amostra efluente foi feita a conversão da somatória dos ácidos orgânicos para sua DQO equivalente e esse valor foi subtraído da DQO medida nas amostras. Assim sendo, tem-se a Figura 51.

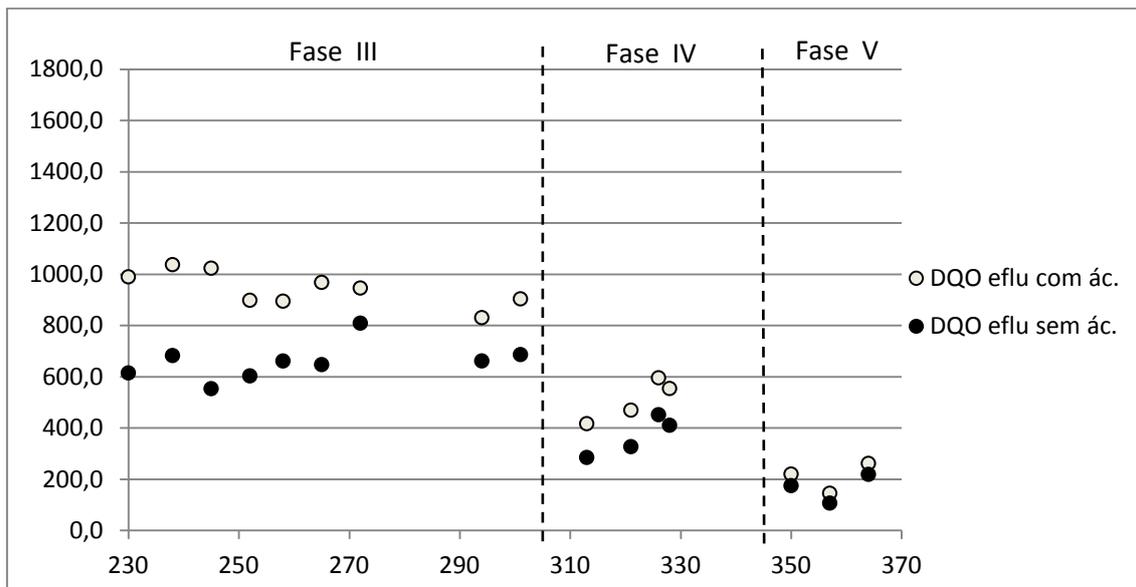


Figura 51 - Valores de DQO com e sem os ácidos orgânicos para RL.

Fonte: produção do próprio autor.

Os valores médios de cada fase e seus desvios estão expostos na Tabela 33.

Tabela 33 - Valores de DQO com e sem os ácidos em RE.

Fase (n <sup>o</sup> amostras)	DQO com ác.		DQO sem ác.	
	Média (mg/L)	Desvio padrão	Média (mg/L)	Desvio padrão
III <sup>(13)</sup>	943	74	660	79
IV <sup>(9)</sup>	588	190	432	157
V <sup>(7)</sup>	209	59	167	56

Fonte: produção do próprio autor.

Comparando os resultados antes e depois da subtração dos ácidos é possível se verificar a representatividade dos mesmos na DQO, sendo indicado um pós-tratamento para sua remoção. De qualquer maneira, principalmente por meio dos dados da Figura 50, pode ser verificada a elevação da remoção de DQO com o passar das fases. A Figura 52 apresenta a representação estatística dos dados.

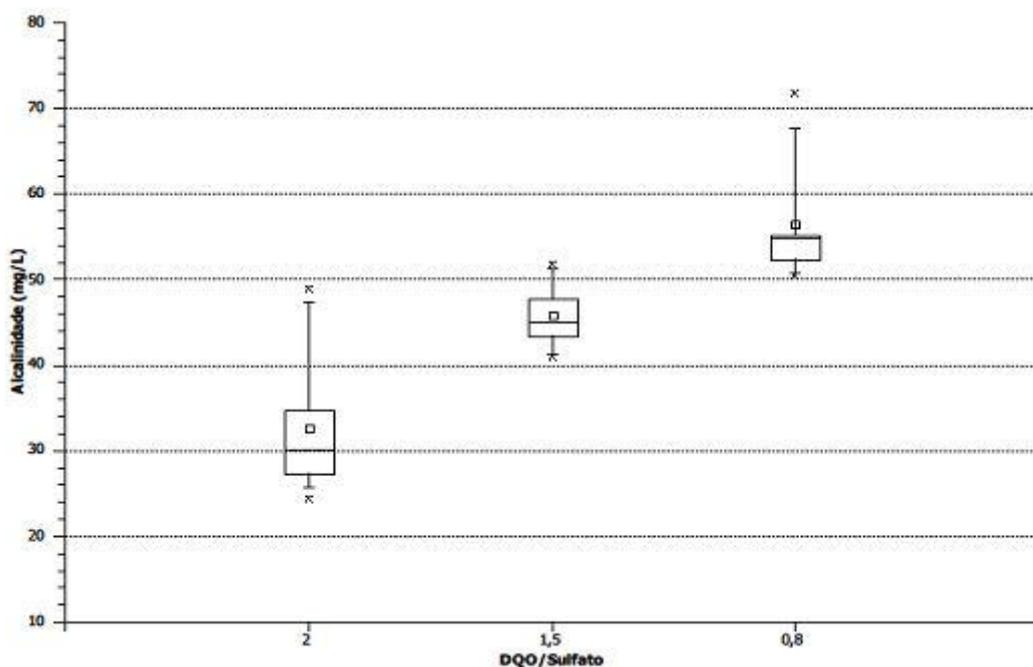


Figura 52 - Interferência da relação DQO/Sulfato na remoção de DQO em RL nas fases III, IV e V – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Diferentemente do pH afluente, o ganho com a redução da DQO de entrada fica muito claro observando-se as Figuras 51 e 52, onde a elevação da

remoção é sensível. Como já discutido anteriormente, isso se deve principalmente a redução dos ácidos produzidos, mas, diferentemente do que ocorreu em RE, essa limitação não contribuiu para o enfraquecimento das BRS, tendo o efeito inverso.

O lactato, por ser substrato preferencial das sulfetogênicas (energia livre de  $-159,6$  KJ/mol), as fortaleceu na competição bacteriana por substrato com sua limitação, aumento sua atividade metabólica com a redução da relação DQO/Sulfato. Essa hipótese é corroborada pelo DGGE realizado, Figura 80, onde entre as fases finais não houve grandes variações nos grupos ativos.

### 5.2.3 Sulfato em RE e RL

As concentrações de sulfato quantificadas em RE estão apresentadas na Figura 53.

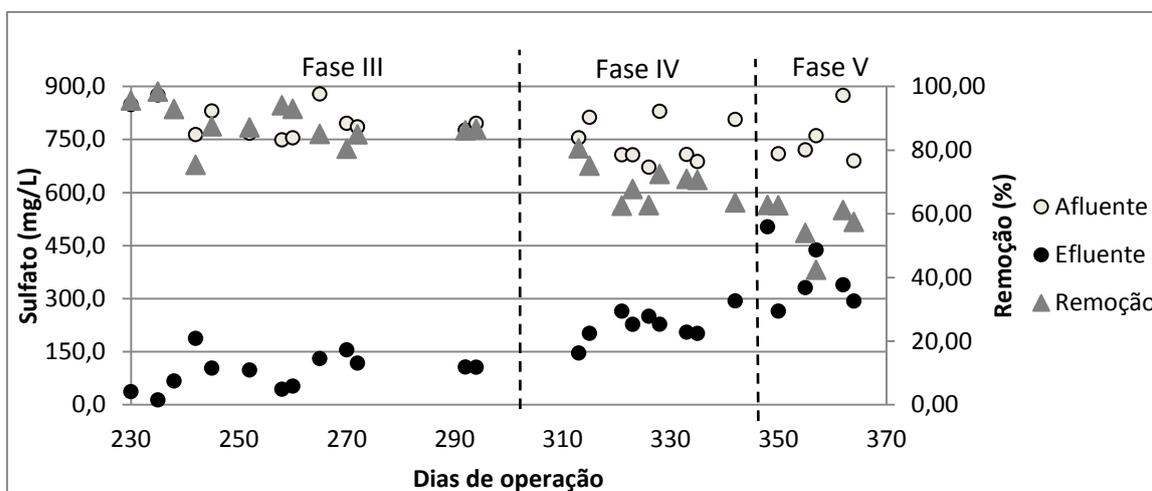


Figura 53 - Valores de sulfato medidos em RE nas fases III, IV e V.

Fonte: produção do próprio autor.

As remoções médias referentes a Figura 53 e os respectivos desvios padrão estão expostos na Tabela 34.

Tabela 34 - Valores de remoção de Sulfato e seus desvios.

Fase (n ° amostras)	Rem. Média (%)	Desvio padrão
III <sup>(13)</sup>	87	5
IV <sup>(8)</sup>	70	6
V <sup>(7)</sup>	58	8

Fonte: produção do próprio autor.

Mesmo com a variação observada na fase III há um elevado valor de remoção de sulfato, estando sempre acima de 80%. Isso indica que havia uma intensa atividade das BRS e que as concentrações de DQO e de sulfato fornecida era suficiente para um bom desempenho do sistema na conversão dessa espécie química. No entanto, a partir da fase III, tem-se claramente uma tendência de queda na remoção de sulfato no meio em decorrência da redução da DQO disponível. Para facilitar essa observação, têm-se as Figuras 54.

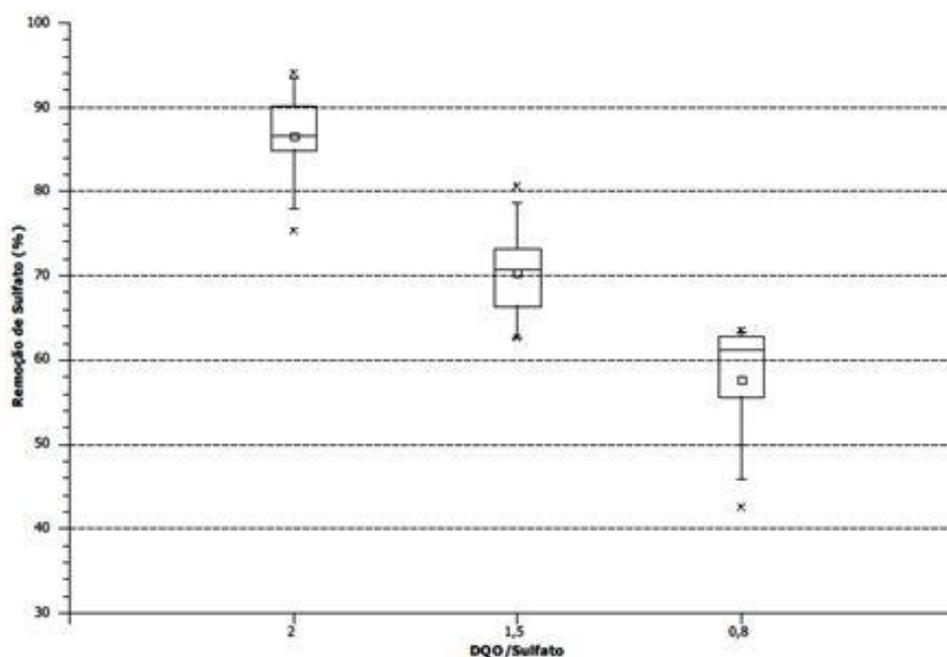


Figura 54 - Interferência da relação DQO/Sulfato na remoção de Sulfato em RE nas fases III, IV e V – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

A redução da DQO foi prejudicial à atuação das BRS, como já esperado pela reação envolvida na sulfetogênese. Fato esse pode ser devido a mudança na relação DQO/Sulfato que se distanciou de seu valor ideal para a atuação

das BRS (1,92) e pelo favorecimento de outras espécies fruto da redução de sulfeto produzido.

Velasco et al. (2008) verificou que o aumento da relação DQO/Sulfato de 1,0 para 1,5 e em seguida para 2,0, também utilizando etanol como fonte de carbono, resultou em um significativo aumento da remoção de sulfato do afluente, corroborando com os resultados aqui encontrados. Ele obteve, para uma relação DQO/Sulfato de 1,5, uma remoção média de sulfato de  $68 \pm 7\%$  (pH afluente 7,0), valores compatíveis, em ordem de grandeza, com os aqui encontrados.

O valor de remoção de sulfato médio obtido por Couto (2014) operando um reator batelada com pH afluente de 4,0 e DQO/Sulfato = 1,0 foi de  $42 \pm 15\%$ , sendo esse valor um pouco inferior ao obtido na fase V do presente trabalho, que possui relação DQO/Sulfato próxima. Fato esse pode ser consequência do excesso de sulfato com relação a DQO no meio, sendo que o valor adotado foi de 50 mg/L. Como toda a DQO do meio foi consumida (remoção de 100%), não havia receptor de elétrons no meio para que ocorresse a sulfetogênese, como demonstrado pela equação 6.

Como ocorreu com a remoção de DQO, a redução da relação DQO/Sulfato foi favorável a remoção de sulfato. Fato esse pode ser observado pela Figura 55.

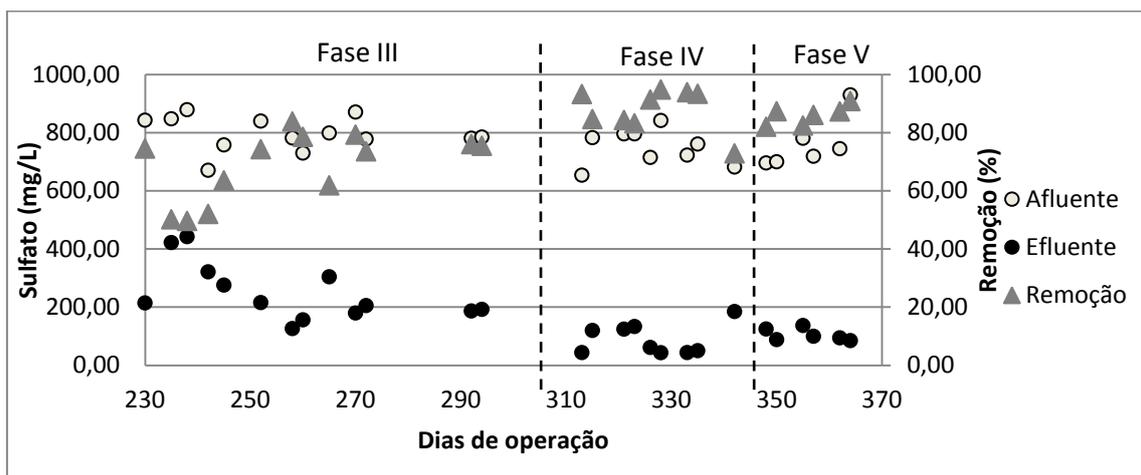


Figura 55 - Valores de sulfato medidos em RL nas fases III, IV e V.

Fonte: produção do próprio autor.

A exemplo do verificado com a DQO, como já era esperado pela equação 6, tem-se claramente um beneficiamento do sistema na remoção de sulfato com as mudanças propostas, com exceção da fase V onde há, aparente estabilidade. Para melhor observar os efeitos das fases testadas, os dados de média e desvio de cada uma delas estão dispostos na Tabela 35.

Tabela 35 - Valores de remoção de Sulfato e seus desvios.

Fase (n <sup>o</sup> amostras)	Rem. Média (%)	Desvio padrão
III <sup>(13)</sup>	70	11
IV <sup>(9)</sup>	90	5
V <sup>(7)</sup>	84	6

Fonte: produção do próprio autor.

Como pode ser observado pela Tabela 35 ocorreu um aumento da fase III para a IV e uma estabilidade entre as duas ultimas. Para observar esse fato graficamente, a Figura 56 apresenta a diferença estatística entre as fases.

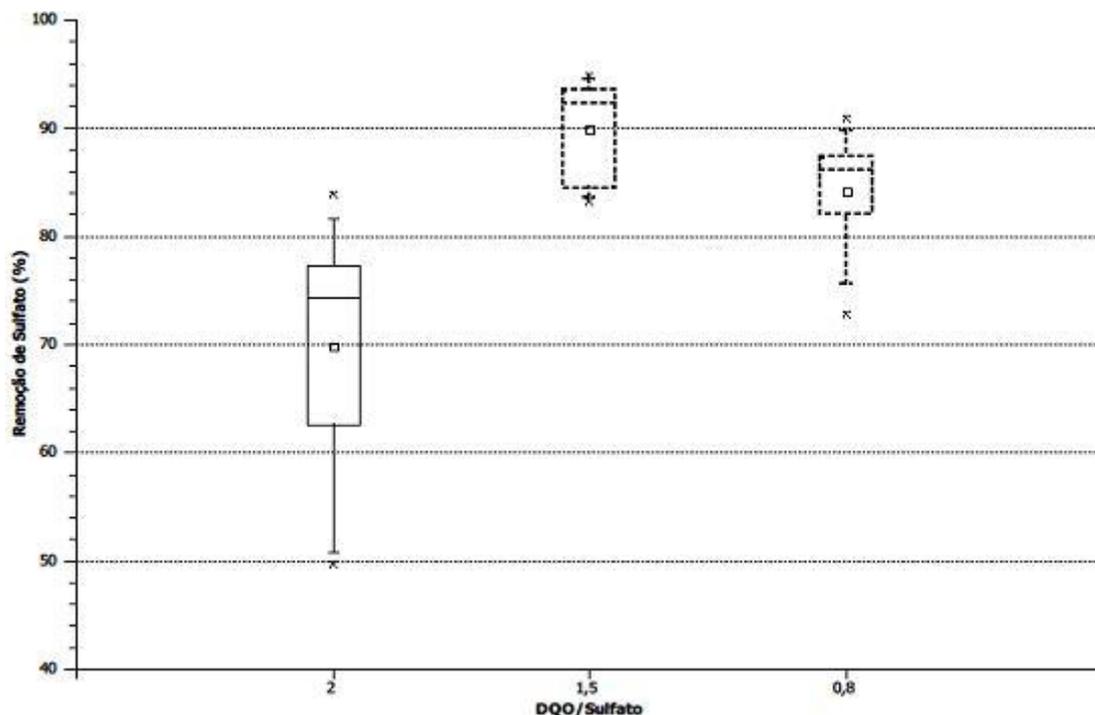


Figura 56 - Influência da relação DQO/Sulfato na remoção de sulfato em RL nas fases III, IV e V – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Com relação a passagem entre as fases, tem-se que a redução da fase III para a IV teve impacto positivo no sistema, sendo verificadas remoções na

faixa de 90%. Esse efeito, muito provavelmente, foi decorrente do favorecimento das BRS na competitividade pelo substrato, uma vez que essas são beneficiadas em baixas relações DQO/Sulfato.

A passagem para a última fase, no entanto, não resultou em diferenças estatísticas com relação a IV segundo a ANOVA, fato esse pode significar que as BRS já tinham um cenário totalmente favorável (cerca de 90% de remoção), não havendo competição pelo lactato.

#### 5.2.4 Sulfeto em RE e RL

As concentração de sulfeto na fase líquida medidos no efluente de RE estão apresentados na Figura 57.

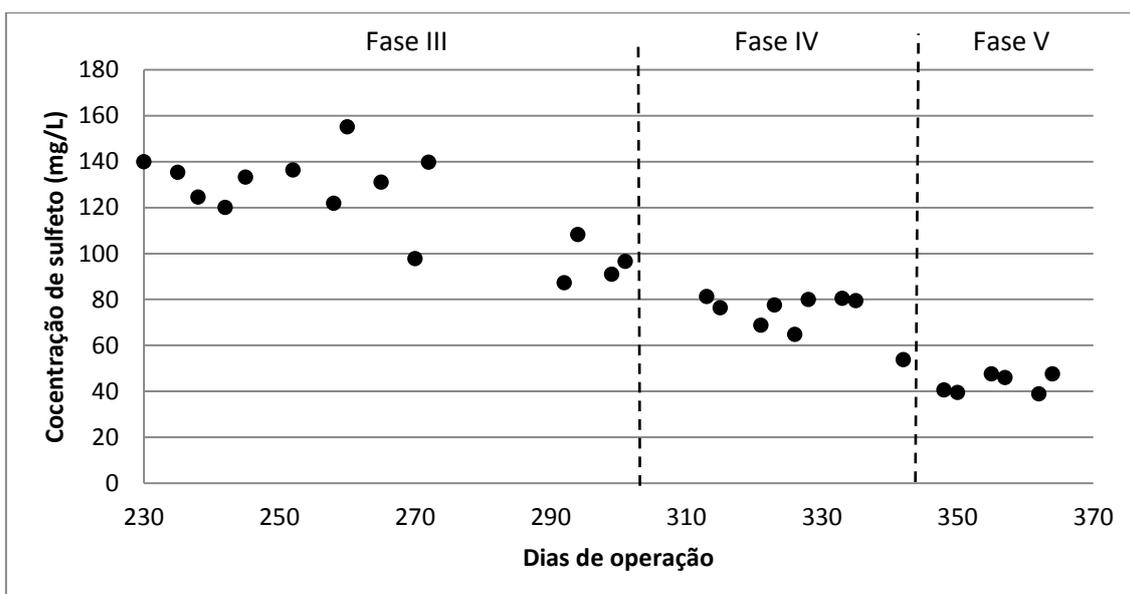


Figura 57 - Valores de sulfeto medidos em RE nas fases III, IV e V.

Fonte: produção do próprio autor.

As médias para cada fase bem como seus desvios estão apresentados pela Tabela 36.

Tabela 36 - Valores de Sulfeto e seus desvios.

Fase (n ° amostras)	Sulfeto (ug/L)	Desvio padrão
III <sup>(13)</sup>	119	21
IV <sup>(8)</sup>	76	6
V <sup>(7)</sup>	45	5

Fonte: produção do próprio autor.

Fica claro pela Tabela 36 e Figura 58 que houve um prejuízo da redução da DQO afluente na produção de sulfeto, como já era esperado pela menor conversão de sulfato. Esse efeito pode ser observado pela Figura 58.

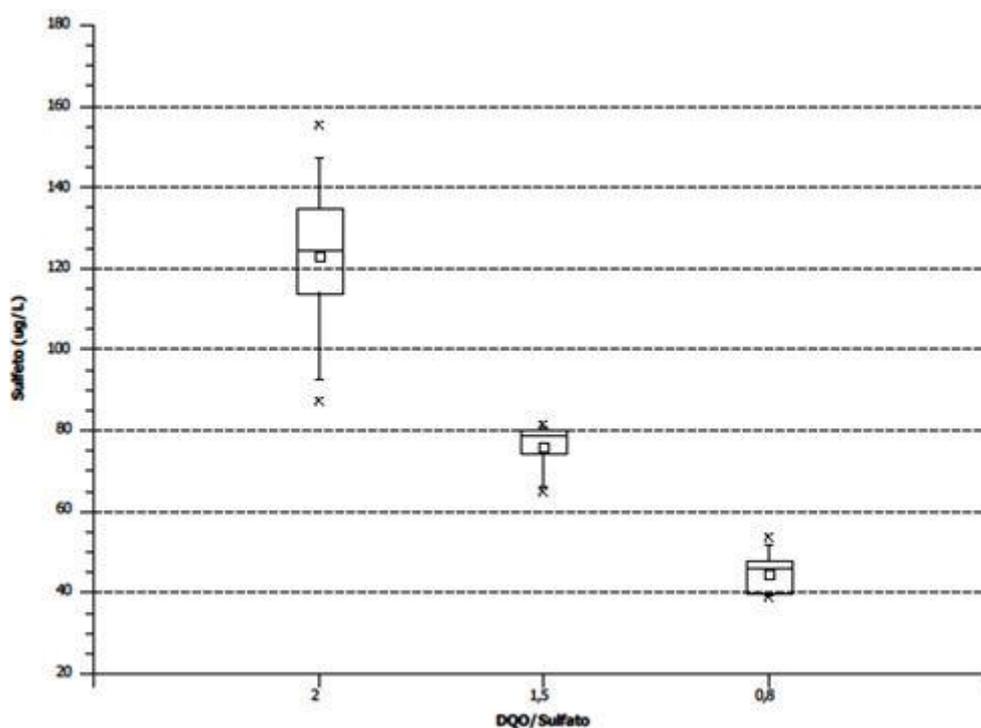


Figura 58 - Interferência da relação DQO/Sulfato na produção de Sulfeto em RE nas fases III, IV, V – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Por meio da Figura 58, tem-se que há um prejuízo no sistema com a redução da concentração de matéria orgânica afluente. Fato esse era esperado quando considerada a equação 6, uma vez que nessas fases houve também a redução da conversão de sulfato. A Figura 58 demonstra que essa influência é intensa, sendo que os valores de concentração ao final de operação se encontram inferiores a 50 mg/L.

Velasco et al.. (2008) em sua pesquisa, também observou que o aumento da relação DQO/Sulfato adotada (1,0 para 1,5 e em seguida 2,0) resultou em um aumento da produção de sulfeto no efluente.

Como o sulfeto é um dos principais inibidores de muitos organismos (COLLERAN, FINNEGANS; LENS, 1994; ISA et al., 1986; GÓMEZ, 2013), menores concentrações desse pode favorecer o crescimento de outras espécies, aumento a competitividade por doadores de elétrons e, conseqüentemente, reduzindo a atuação das espécies de interesse, no caso as BRS.

A Figura 59 apresenta as concentrações de sulfeto observadas no efluente de RL.

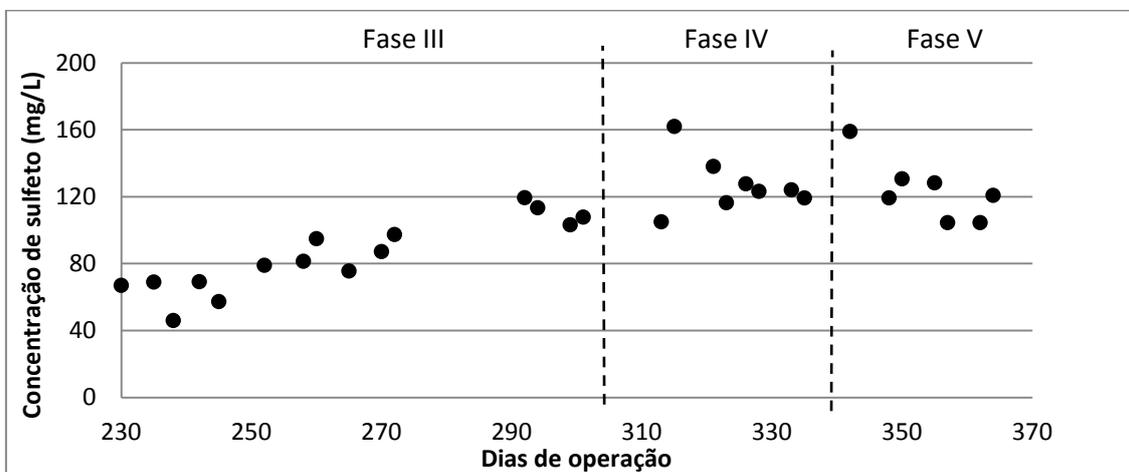


Figura 59 - Valores de sulfeto medidos em RL nas fases III, IV e V.

Fonte: produção do próprio autor.

As médias e desvios dos dados estão contidos na Tabela 37.

Tabela 37 - Valores de sulfeto medidos em RL nas fases III, IV e V.

Fase (n amostra)	Sulfeto (ug/L)	Desvio padrão
III <sup>(13)</sup>	87,06	21,83
IV <sup>(9)</sup>	126,97	17,02
V <sup>(7)</sup>	123,87	18,62

Fonte: produção do próprio autor.

Como já era esperado, os dados apresentados tem grande semelhança com os de remoção de sulfato, ou seja, há um favorecimento do sistema nas

mudanças iniciais e certa estabilidade nas duas últimas fases. A Figura 60 apresenta os dados na forma de Box plot.

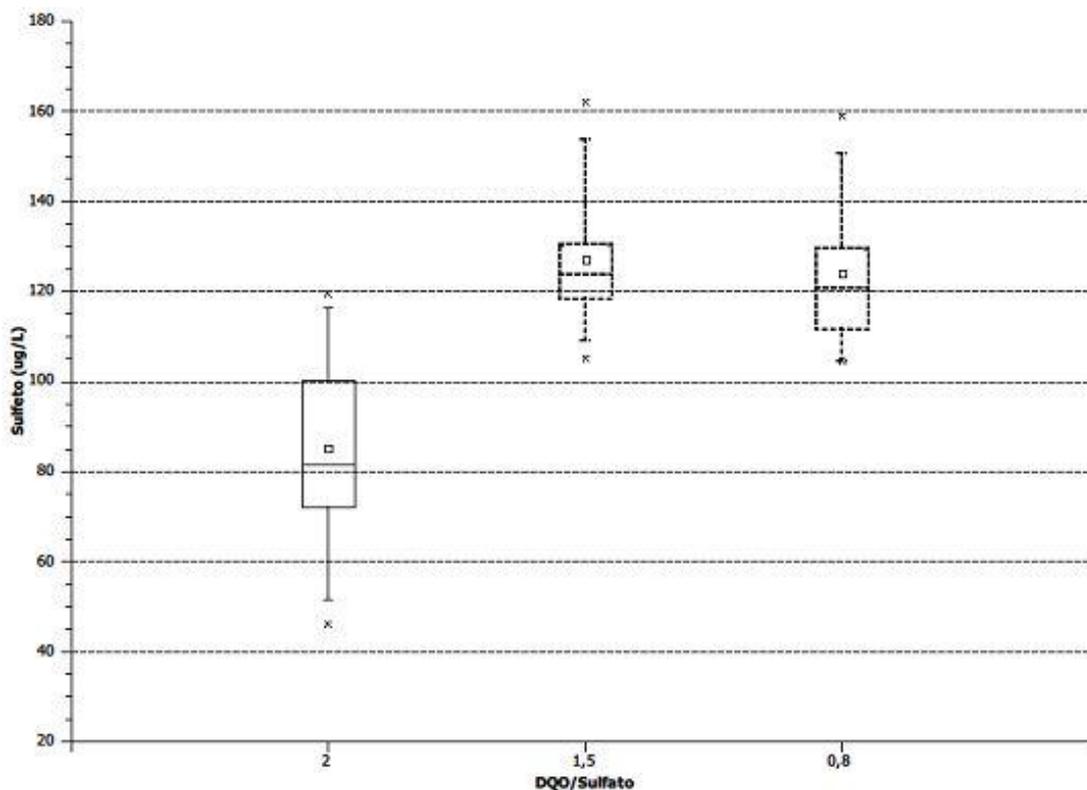


Figura 60 - Influência da relação DQO/Sulfato na produção de sulfeto em RL nas fases III, IV e V – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Com redução da DQO, como verificado no item anterior, há um ganho com a primeira mudança e uma estabilidade entre as fases IV e V, confirmada pela igualdade estatística indicada pela ANOVA.

Tal fato ser explicado pela melhor competitividade das BRS gerada pela redução dessa relação e seu posterior estabelecimento no meio. Outro fator que influencia nesse caso é a forma em que o sulfeto se apresenta com relação ao pH (Figura 1). Assim sendo, como nas fases finais o pH efluente se apresenta entre 7 e 8, a forma preferencial é o  $\text{HS}^-$  estando assim na fase líquida.

### 5.2.5 Alcalinidade em RE e RL

Os valores de alcalinidade produzida no reator RE estão apresentados pela Figura 61.

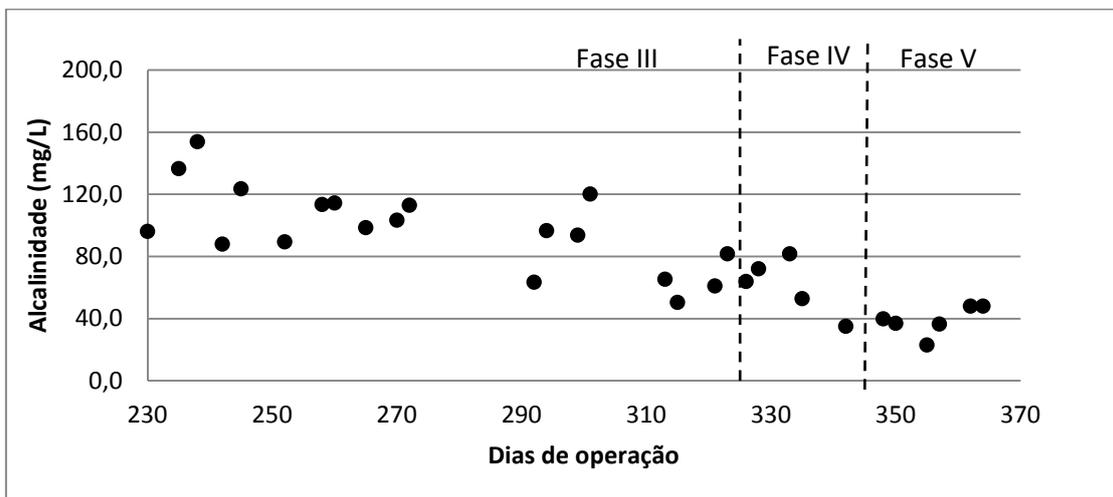


Figura 61 - Valores de alcalinidade medidos em RE nas fases III, IV e V.

Fonte: produção do próprio autor.

As alcalinidades médias para cada fase bem como seus desvios estão apresentados pela Tabela 38.

Tabela 38 - Valores de alcalinidade e seus desvios.

Fase (n <sup>o</sup> amostras)	Alcalinidade (mg/L)	Desvio padrão
III <sup>(13)</sup>	105,56	21,77
IV <sup>(8)</sup>	66,20	11,80
V <sup>(7)</sup>	38,27	8,57

Fonte: produção do próprio autor.

Por meio da Figura 61 e da Tabela 38 pode-se entender que houve grande redução da alcalinidade com a redução da concentração de matéria orgânica fornecida. Para melhor visualizar essa relação, tem-se a Figura 62.

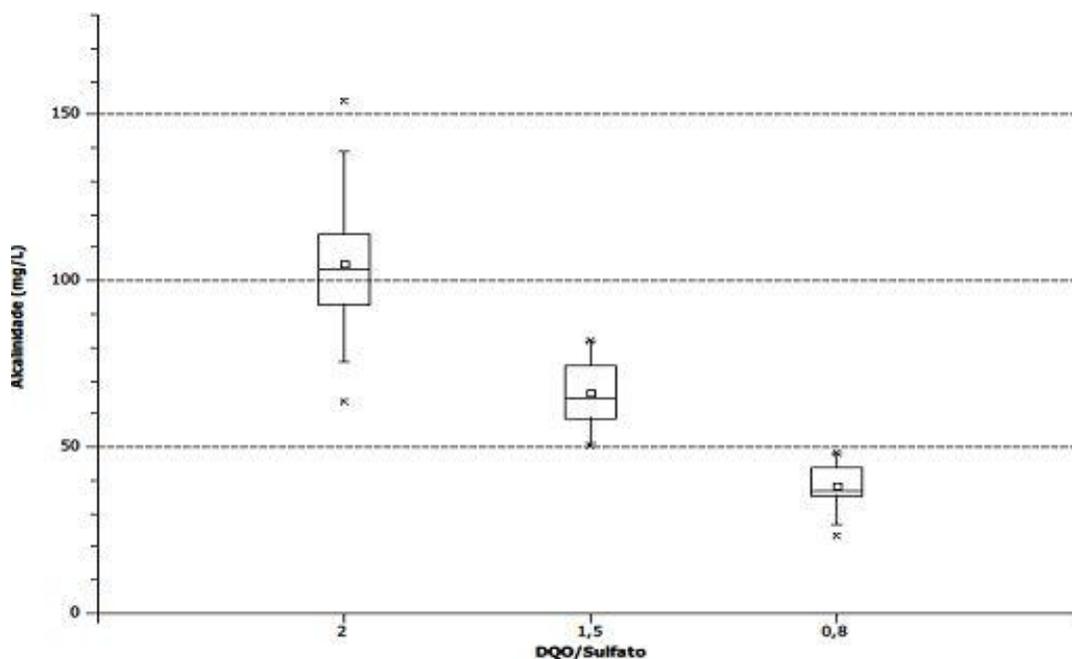


Figura 62 - Interferência da relação DQO/Sulfato na produção de alcalinidade em RE nas fases III, IV e V – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Com respeito a influência da relação DQO/Sulfato nesse parâmetro, fica claro que há um prejuízo à alcalinidade produzida devido a redução da DQO afluente, observado na Figura 62.

Isso pode ser explicado pelo fato de que a alcalinidade produzida em RE se deve somente pela chamada alcalinidade intermediária ( $4,30 < \text{pH} < 5,75$ ), sendo essa resultante da concentração de ácidos orgânicos no efluente. Como o sistema possui uma relação DQO/Sulfato e uma fonte de carbono que favorece as bactérias oxidativas incompletas (BARBOSA, 2009; WIDDEL et al., 1998) e essas produzem ácidos orgânicos na conversão da DQO e sulfato, a redução de entrada de matéria orgânica resultou na diminuição de ácidos orgânicos formados e, conseqüentemente, na alcalinidade produzida.

Já o monitoramento de alcalinidade em RL gerou os dados dispostos na Figura 63.

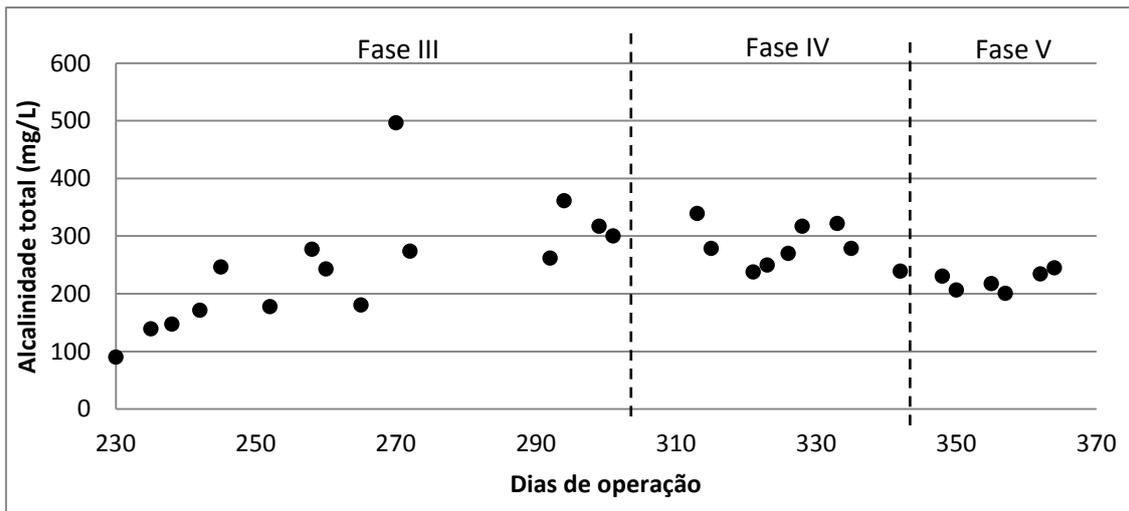


Figura 63 - Valores de alcalinidade medidos em RL nas fases III, IV e V.

Fonte: produção do próprio autor.

Por meio da Figura 63 tem-se que nas fases finais uma pequena variação indicando estabilidade do sistema com uma pequena tendência de queda. Os valores de média e desvio de cada uma das fases está contido na Tabela 39.

Tabela 39 - Valores de alcalinidade e seus desvios.

Fase (n <sup>o</sup> amostras)	Alcalinidade (mg/L)	Desvio padrão
III <sup>(13)</sup>	266,07	93,67
IV <sup>(9)</sup>	286,98	36,05
V <sup>(7)</sup>	225,18	16,87

Fonte: produção do próprio autor.

Os elevados desvios verificados, principalmente na fase III, se devem as fases de transição entre as etapas e adaptação do meio dentro de cada uma delas. O comportamento esse processo pode ser observado na Figura 64.

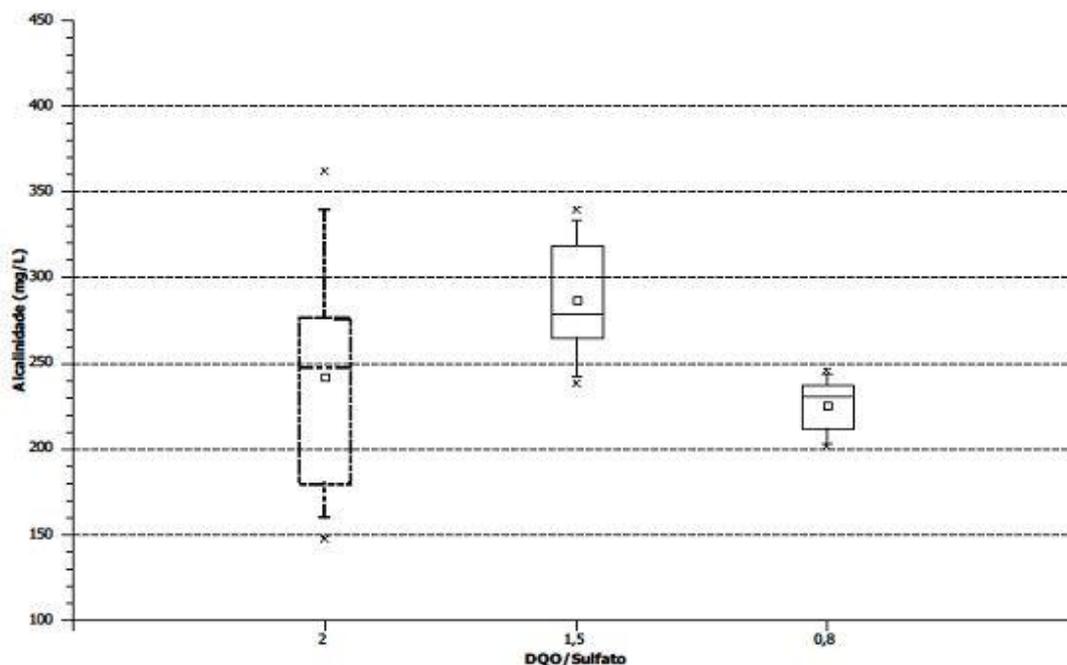


Figura 64 - Influência da relação DQO/Sulfato na produção de alcalinidade em RL nas fases III, IV e V – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Observando o comportamento das três últimas fases tem-se que há um ganho na primeira redução de DQO, ainda que a ANOVA não o identifique devido ao seu desvio (gerado pela adaptação). Já a segunda redução (de IV a V), observa-se um pequeno prejuízo, ainda que muito pequeno. Por meio da Figura 64 vê-se que a tendência é de estabilidade, com flutuações devido aos erros na medida por titulação.

Mesmo sem o aumento da produção de alcalinidade, observa-se uma elevação do pH afluente sendo esse fruto da redução da produção de ácidos, a serem detalhados adiante.

### 5.2.6 Ácidos voláteis em RE e RL

As medidas de ácidos voláteis obtidos nas amostras efluentes estão apresentadas na Figura 65.

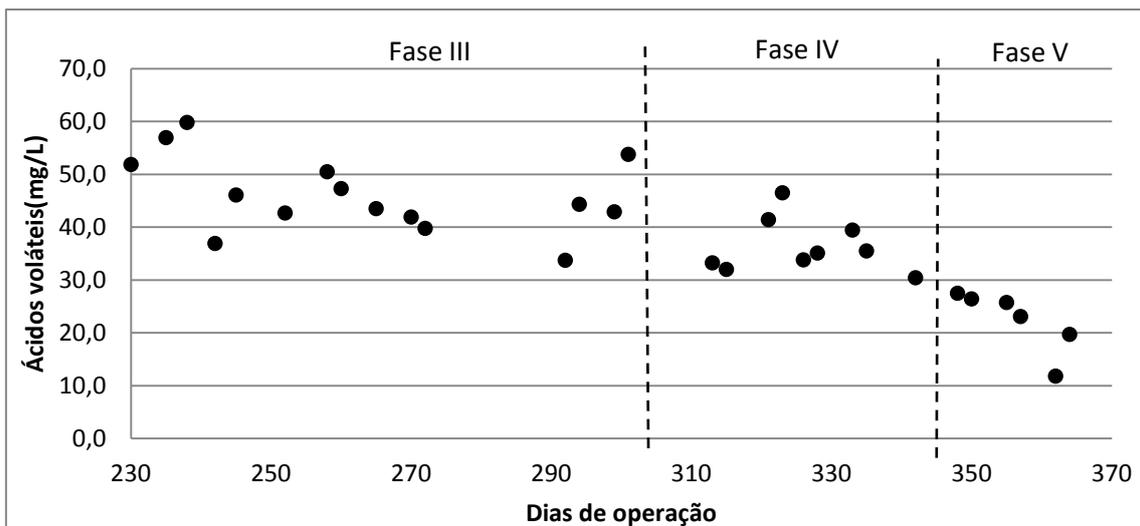


Figura 65 - Valores de ácidos voláteis medidos em RE nas fases III, IV e V.

Fonte: produção do próprio autor.

Os valores médios para cada fase bem como seus desvios estão apresentados pela Tabela 40.

Tabela 40 - Valores de ácidos voláteis medidos em RE.

Fase (n <sup>o</sup> amostras)	Ác. Voláteis (mg/L)	Desvio padrão
III <sup>(13)</sup>	45	7
IV <sup>(8)</sup>	37	5
V <sup>(7)</sup>	24	6

Fonte: produção do próprio autor.

A tendência verificada entre as fases III, IV e V é de redução da produção de ácidos, resultado da redução da DQO na alimentação e da atividade das BRS. Essas relações podem ser mais bem observadas nas Figuras 66.

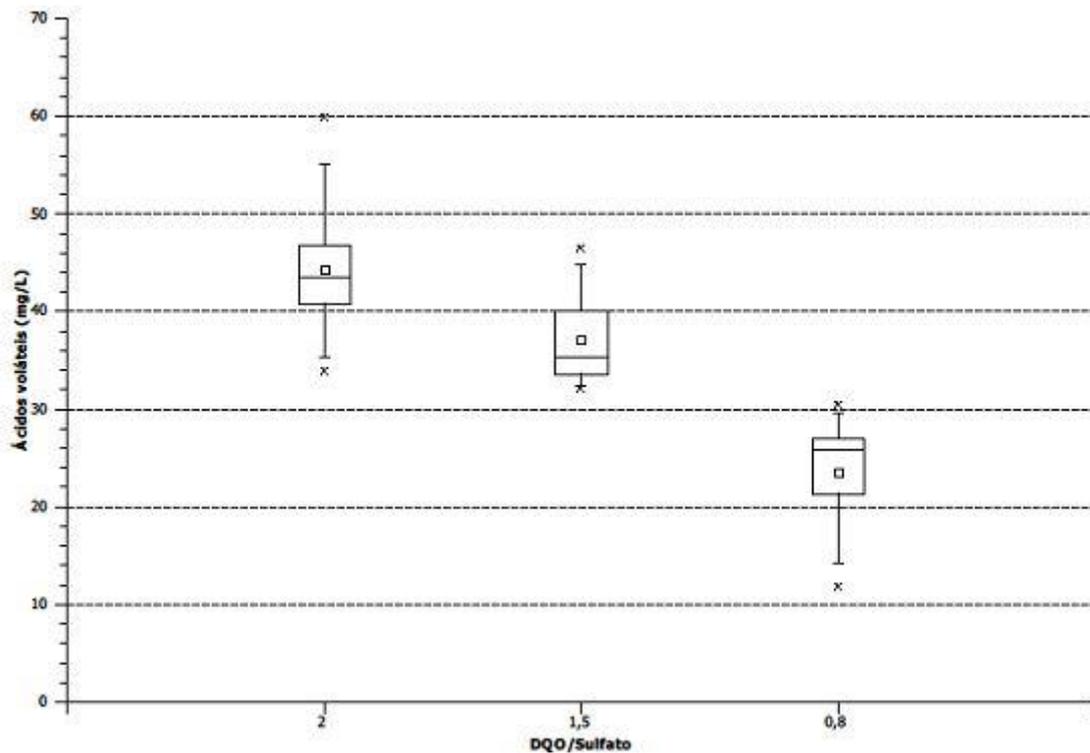


Figura 66 - Interferência da relação DQO/Sulfato na produção de ácidos voláteis em RE nas fases III, IV e V – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

A redução de DQO se mostrou benéfica ao sistema, uma vez que a redução dos ácidos produzidos (Figura 66), no caso estudado, é desejada pela redução da DQO afluente e da acidez na saída do reator. A explicação para esse fato foi dada anteriormente, sendo que menor disponibilidade de matéria orgânica diminuiu a atividade dos microrganismos sulfetogênicos e a produção de ácidos pelas bactérias redutoras de sulfato do tipo incompletas, que levam a fonte de carbono e o sulfato para ácido acético.

Para RL, os valores de ácidos voláteis obtidos foram os apresentados pela Figura 67.

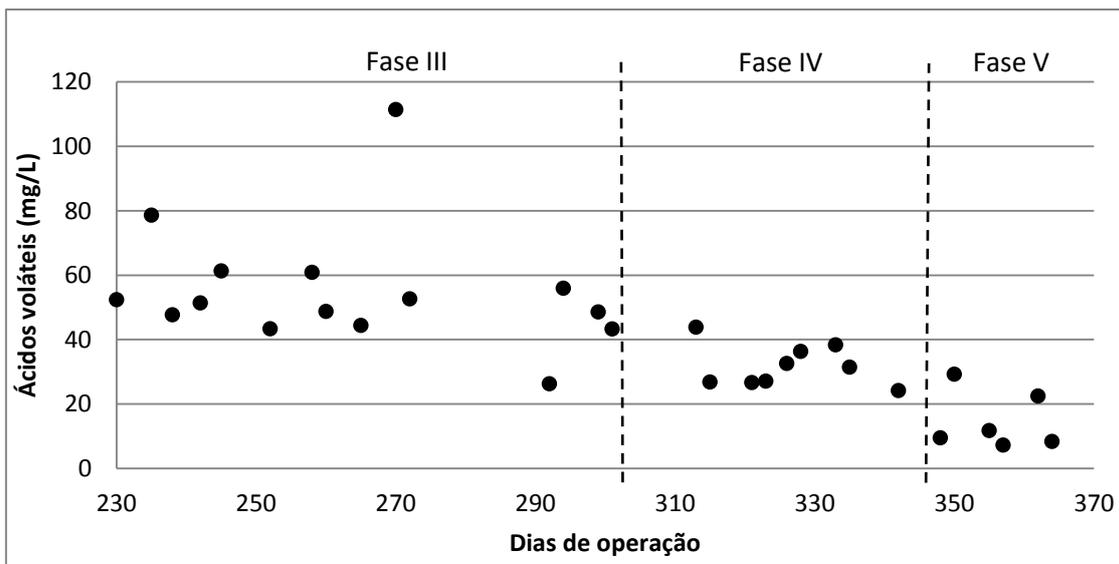


Figura 67 - Valores de ácidos voláteis medidos em RL nas fases III, IV e V.

Fonte: produção do próprio autor.

Com a redução da DQO, além de reduzir a quantidade de lactato a ser convertida a ácido, tem-se, possivelmente, o fortalecimento das BRS do tipo oxidativas completas. Isso explicaria a redução da concentração de ácidos e a elevação das concentrações de  $\text{CO}_2$ .

Os dados de média e desvio de casa uma das fases estão presentes na Tabela 41.

Tabela 41 - Valores de ácidos voláteis e seus desvios.

Fase (n <sup>o</sup> amostras)	Ac. voláteis (mg/L)	Desvio padrão
III <sup>(13)</sup>	53,60	19,55
IV <sup>(9)</sup>	32,97	6,24
V <sup>(7)</sup>	16,19	8,93

Fonte: produção do próprio autor.

A Figura 68 apresenta a análise estatística dos dados apresentados pela Figura 67.

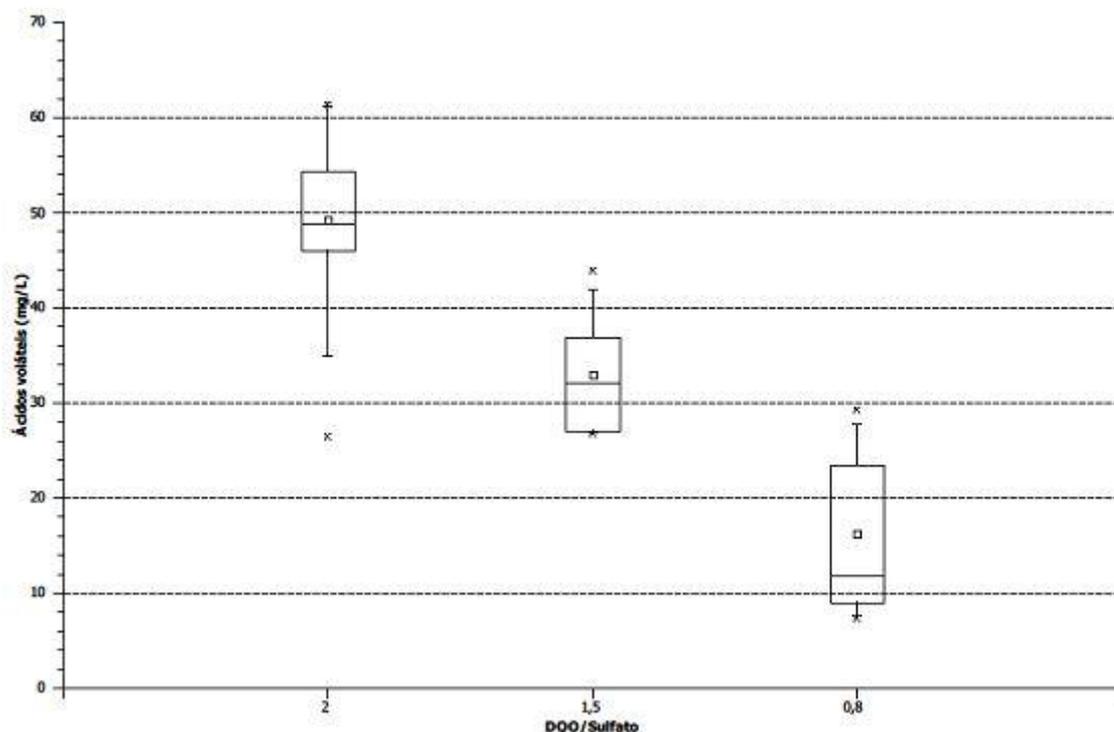


Figura 68 - Influência da relação DQO/Sulfato na produção de ácidos voláteis em RL nas fases III, IV e V – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Os dados apresentados com relação redução da DQO, mesmo com os desvios, a tendência de queda de produção dos ácidos e o possível fortalecimento das BRS oxidativas completas fica evidente com a Figura 68. Fato esse contribui para a elevação do pH medido no efluente de RL e redução da interferência desses ácidos no valor de DQO efluente e, conseqüentemente, em sua remoção observada.

### 5.2.7 Ácidos orgânicos em RE e RL

Os dados resultantes da análise de ácidos orgânicos (acético, orgânico e butírico) no efluente de RE estão apresentados na Figura 69.

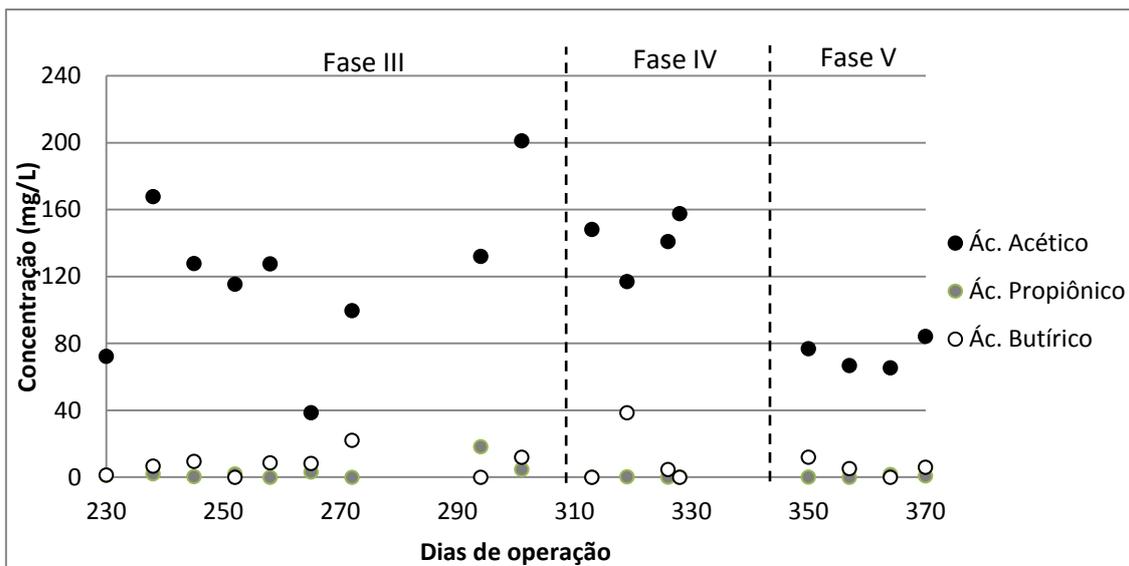


Figura 69 - Valores de ácidos orgânicos medidos em RE nas fases III, IV e V.

Fonte: produção do próprio autor.

As concentrações médias em cada fase e os respectivos desvios podem ser observadas na Tabela 42.

Tabela 42 - Valores de ácidos orgânicos e seus desvios.

Fase (n <sup>o</sup> amostras)	Ác. Acético		Ác. Propiônico		Ác. Butírico	
	Média (mg/L)	Desvio padrão	Média (mg/L)	Desvio padrão	Média (mg/L)	Desvio padrão
III <sup>(13)</sup>	116	39	3,7	6,5	8	7
IV <sup>(8)</sup>	153	31	1,1	2,0	11	16
V <sup>(7)</sup>	73	9	0,7	0,8	6	5

Fonte: produção do próprio autor.

Como mostrado na Tabela 42, as concentrações dos ácidos propiônico e butírico são muito baixas, não tendo muita relevância para a análise. Os altos valores de desvio padrão associados à esses gases são decorrentes de picos em ocasiões pontuais na operação. Como já dito, os problemas com armazenamento das amostras, além das oscilações do sistema, podem ter colaborado com os desvios apresentados. A Figura 70 apresenta os dados na forma de Box plot.

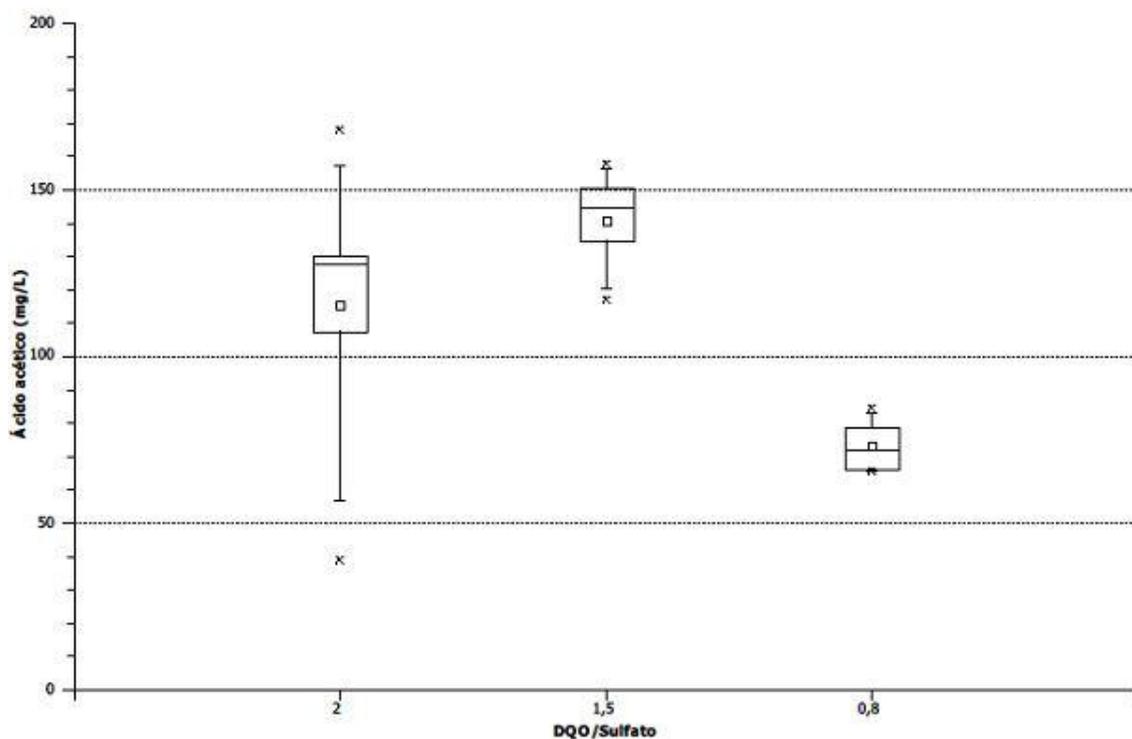


Figura 70 - Influência da relação DQO/Sulfato na formação de ácido acético em RE nas fases III, IV e V – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Com a redução da DQO na transição principalmente da fase IV para a V, a diminuição da concentração de ácidos orgânicos no sistema fica evidente, sendo tal fato era esperado, uma vez que o método titulométrico e a elevação da remoção de DQO já indicavam essa tendência pela redução da atividade das BRS com menores relações DQO/Sulfato.

Os valores de ácidos orgânicos obtidos para o efluente de RL estão dispostos na Figura 71. Os valores de média e desvio para cada um dos ácidos nas fases testadas se encontram na Tabela 43.

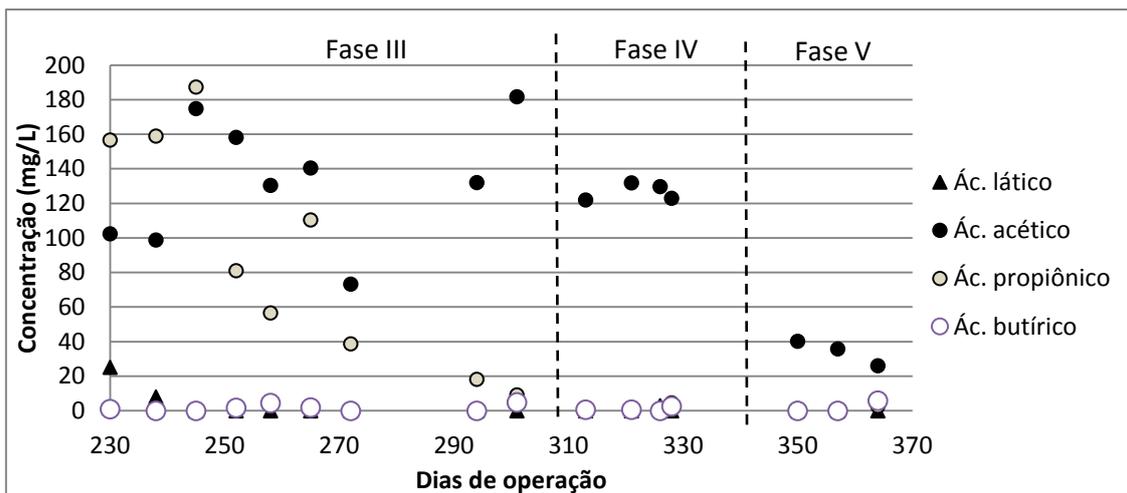


Figura 71 - Valores de ácidos orgânicos medidos em RL nas fases III, IV e V.

Fonte: produção do próprio autor.

Tabela 43 - Valores de ácidos orgânicos e seus desvios.

Fase	Ác. Láctico		Ác. Acético		Ác. Propiônico		Ác. Butírico	
	Média (mg/L)	Desvio padrão	Média (mg/L)	Desvio padrão	Média (mg/L)	Desvio padrão	Média (mg/L)	Desvio padrão
III <sup>(13)</sup>	1,2	3,1	129,8	34,4	93,1	62,7	1,2	1,7
IV <sup>(9)</sup>	0,6	1,3	137,7	25,0	3,0	4,0	1,8	2,0
V <sup>(7)</sup>	0,0	0,0	34,1	7,2	1,3	1,4	2,0	3,4

Fonte: produção do próprio autor.

Em termos gerais pode-se observar que existe um decréscimo na produção de ácidos com a redução da relação DQO/Sulfato adotada, sendo que esse comportamento demonstrado pela Figura 72. Devidos aos reduzidos valores de concentração dos demais ácidos, a Figura em questão apresenta somente o comportamento do ácido acético, sendo esse o mais importante no processo desenvolvido pelas BRS.

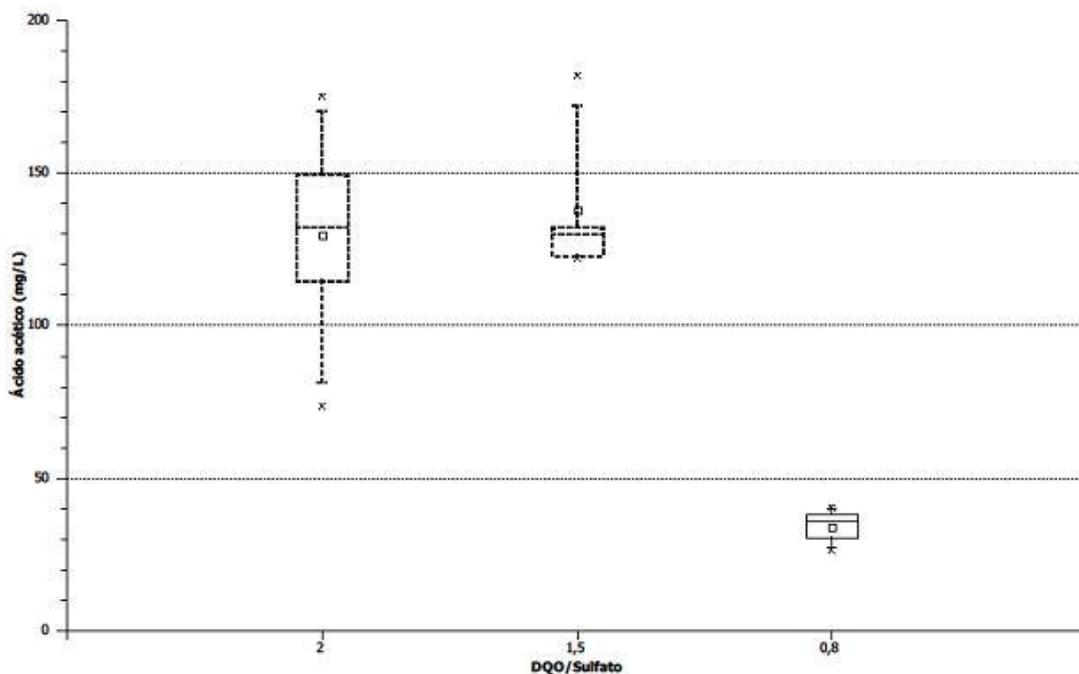


Figura 72 - Influência da relação DQO/Sulfato na produção de ácido acético em RL nas fases III, IV e V – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

No que diz respeito a relação DQO/Sulfato, como era de se esperar, houve uma menor geração de ácido acético com a redução da DQO afluente. Isso ocorreu, como já discutido, devido a menor disponibilidade de lactato para ser convertido a ácido e pela prevalência das BRS oxidativas completas, indicada pela elevação do  $\text{CO}_2$  produzido e redução do acúmulo de ácido acético.

### 5.2.8 Gases em RE e RL

As concentrações dos gases medidas na saída de RE estão apresentados na Figura 73.

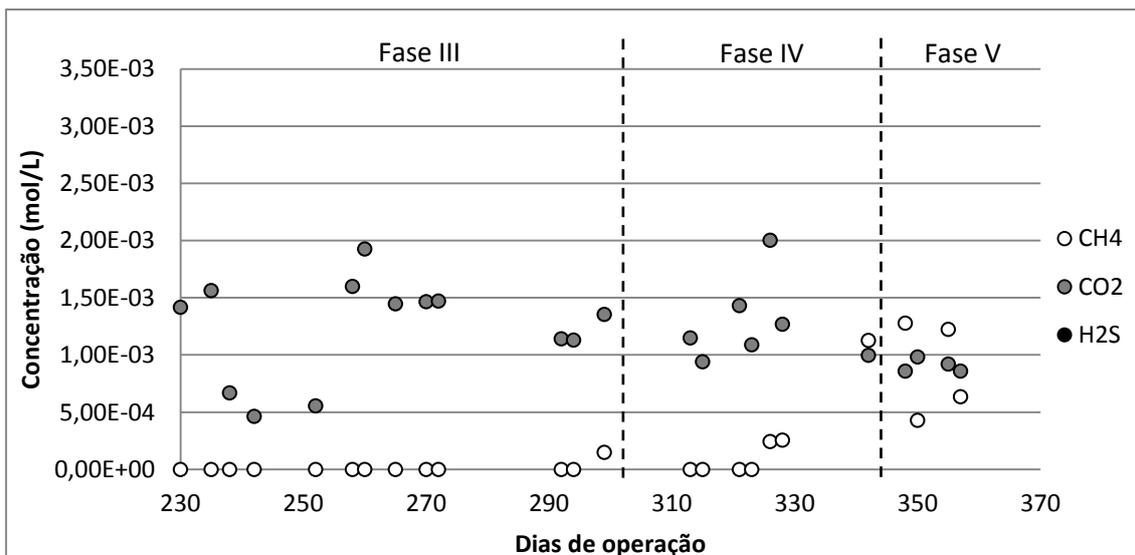


Figura 73 - Valores de gases medidos em RE nas fases III, IV e V.

Fonte: produção do próprio autor.

Os valores médios para cada fase bem como seus desvios estão apresentados pela Tabela 44.

Tabela 44 - Valores médios dos gases e seus desvios.

Fase (nº amostras)	CH4		CO2		H2S	
	Média (mol/L)	Desvio padrão	Média (mol/L)	Desvio padrão	Média (mol/L)	Desvio padrão
III <sup>(13)</sup>	0,00	0,00	1,36E-05	4,51E-05	1,20E-03	4,65E-04
IV <sup>(8)</sup>	0,00	0,00	8,35E-05	1,29E-04	1,31E-03	3,76E-04
V <sup>(7)</sup>	0,00	0,00	8,53E-04	3,46E-04	9,15E-04	6,31E-05

Fonte: produção do próprio autor.

A concentração de metano igual a zero indica inatividade das metanogênicas e isso decorre do ambiente inapropriado para esses organismos (pH muito ácido e relação DQO/Sulfato baixa) e sua competição com as BRS pelo substrato. Como as condições foram estabelecidas a fim de favorecer as bactérias redutoras de sulfato, o reator se tornou essencialmente sulfetogênico. A Figura 74 apresenta os dados na forma de Box plot.

O valor de H<sub>2</sub>S se manteve aproximadamente constante durante todo o tempo de operação, tendo uma pequena redução na fase V, indicando uma menor atividade das BRS no ao final da operação. Na mesma fase ocorreu uma elevação da concentração de CO<sub>2</sub>, sendo um indicativo de maior disputa

pelo substrato (etanol). Tratando especificamente do  $H_2S$ , indicador da atividade sulfetogênica, tem-se a Figura 74.

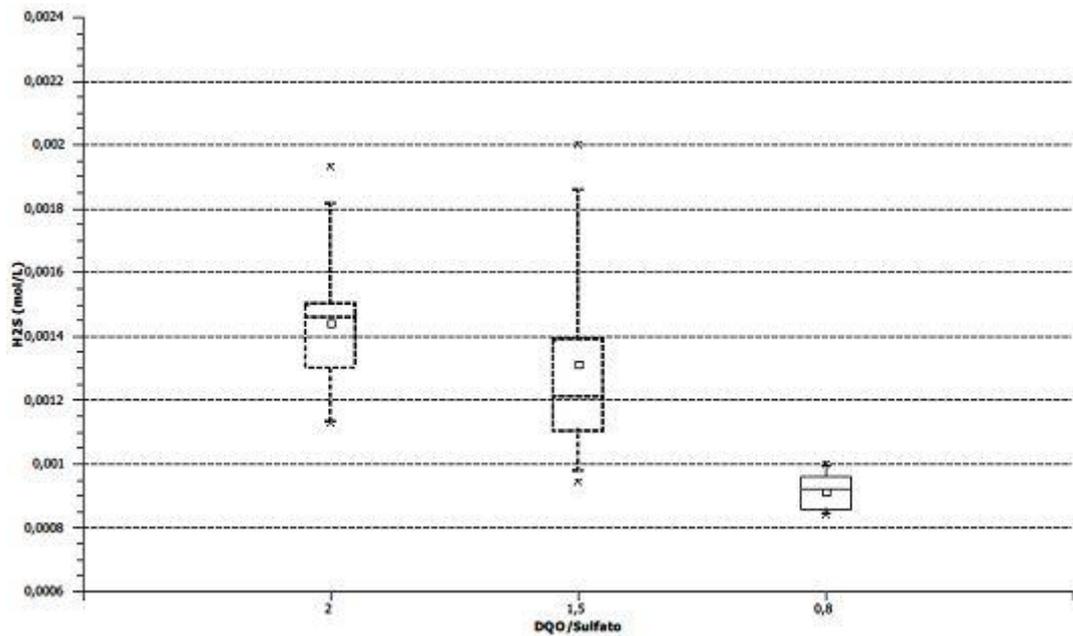


Figura 74 - Interferência da relação DQO/Sulfato na produção de  $H_2S$  em RE nas fases III, IV e V – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

Como já discutido, a redução de DQO principalmente da fase IV para V resultou em uma menor quantidade de  $H_2S$  decorrente da redução da atividade metabólica das BRS. Os conjuntos III e IV são estatisticamente iguais segundo a ANOVA principalmente devido aos elevados desvios (Tabela 44) em alguns pontos, frutos de singularidades na operação.

As concentrações dos gases  $CH_4$ ,  $CO_2$  e  $H_2S$  determinadas em RL estão apresentadas na Figura 75.

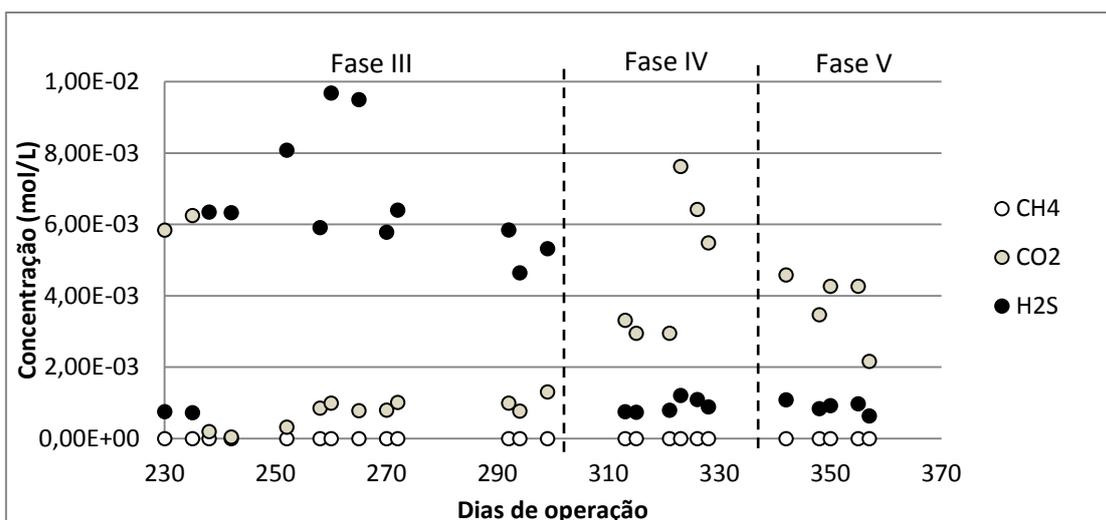


Figura 75 - Valores de gases medidos em RL nas fases III, IV e V.

Fonte: produção do próprio autor.

As concentrações de gás carbônico observadas podem ser resultado da maior atividade das BRS de oxidação completa nas fases finais, como já discutidas.

Se tratando desse do sulfeto, pode-se verificar que há um grande pulso de sua concentração na fase III e, nas fases seguintes um intenso decréscimo, contrariando assim a hipótese de maior atividade das BRS.

É necessário, no entanto, se analisar em qual forma o sulfeto se apresenta em relação ao pH (Figura 1). Como o pH nas fases IV e V se encontra bem mais básico, entre 7 e 8, a forma preferencial é o  $\text{HS}^-$ , estando assim concentrado na fase líquida. Os valores médios e seus desvios estão apresentados pela Tabela 45.

Tabela 45 - Valores médios dos gases e seus desvios.

Fase	CH4		CO2		H2S	
	Média (mol/L)	Desvio padrão	Média (mol/L)	Desvio padrão	Média (mol/L)	Desvio padrão
III <sup>(13)</sup>	0	0	7,36E-04	3,87E-04	6,72E-03	1,65E-03
IV <sup>(9)</sup>	0	0	4,79E-03	2,01E-03	9,15E-04	1,96E-04
V <sup>(7)</sup>	0	0	3,75E-03	9,79E-04	8,94E-04	1,69E-04

Fonte: produção do próprio autor.

A influência da relação DQO/Sulfato na produção de H<sub>2</sub>S (de maior interesse) está retratada na Figura 76.

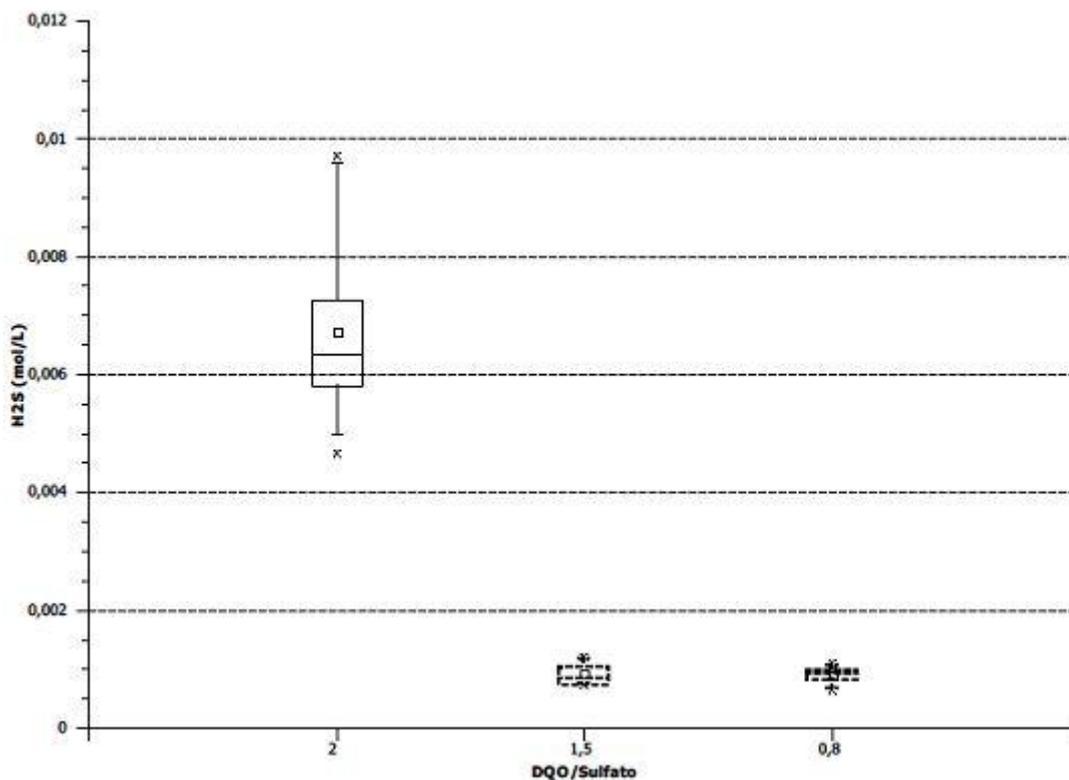


Figura 76 - Interferência da relação DQO/Sulfato na produção de H<sub>2</sub>S em RL nas fases III, IV e V – Box Plot.

Fonte: produção do próprio autor.

A Figura 76 demonstra uma fase III com elevada concentração de H<sub>2</sub>S e as duas seguintes com uma grande queda, decorrentes da concentração do sulfeto na forma de HS<sup>-</sup> devido ao pH efluente elevado (acima de 7,0). Sendo assim, esse valor não indica que houve menor conversão de sulfato pelas BRS em RL.

### 5.2.9 Metais em RE e RL

A Figura 77 apresenta os valores de remoção de Fe, Cu e Zn observados durante as fases III, IV e V em RE.

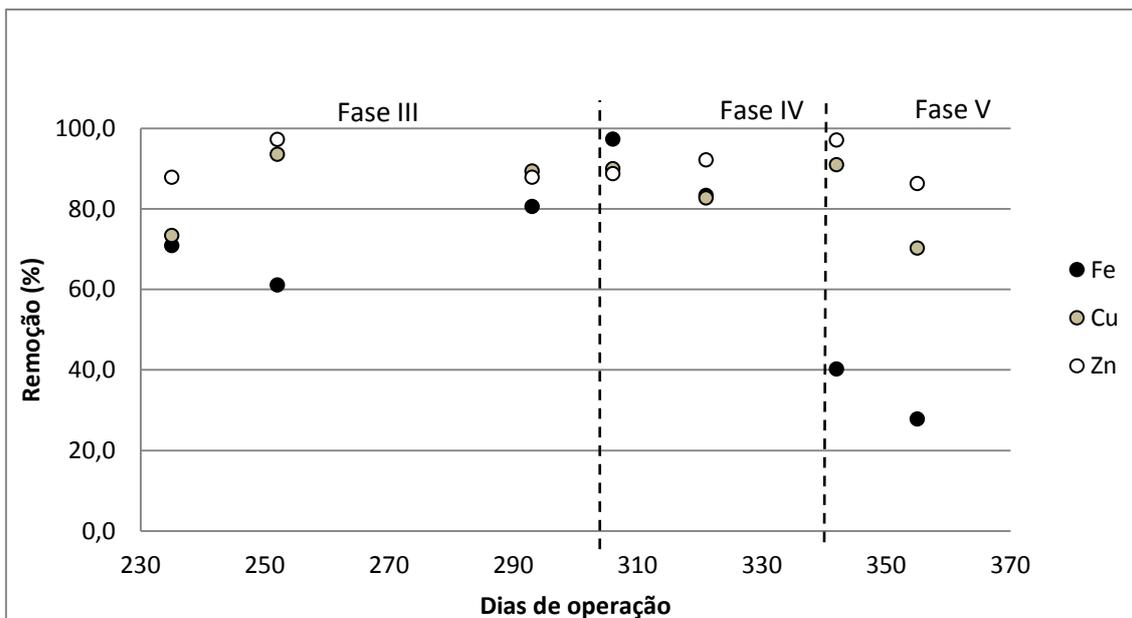


Figura 77 - Porcentagens de remoção dos metais nas fases III, IV e V.

Fonte: produção do próprio autor.

Os valores médios e os desvios dos dados da Figura 49 estão expostos na Tabela 46.

Tabela 46 – Valores médios de remoção de metais e seus desvios.

Fase (n amostras)	Fe		Cu		Zn	
	Rem. (%)	Desvio padrão	Rem. (%)	Desvio padrão	Rem. (%)	Desvio padrão
III <sup>(2)</sup>	70,9	13,8	91,5	2,9	92,6	6,6
IV <sup>(2)</sup>	90,4	9,9	86,4	5,1	90,5	2,4
V <sup>(2)</sup>	34,1	8,8	80,7	14,6	91,7	7,6

Fonte: produção do próprio autor.

Pode se dizer que a remoção de ferro (mais sensível entre eles) em RE foi prejudicada pelas alterações propostas, tendo somente um aumento na fase IV. Tanto o cobre quanto o zinco apresentaram elevados valores de remoção em todas as etapas, sendo visualizado, porém, mesmo que em menor escala, uma redução de remoção com o passar do tempo.

Como esperado pelos dados de atividade das BRS já expostos, tem-se uma redução da remoção dos metais com a menor concentração de etanol no afluente. Isso é devido a menor formação de sulfeto no sistema e,

consequentemente, menor formação de sulfetos metálicos, responsável pela precipitação dos metais. Como visto anteriormente o Fe sofre mais influência que os demais metais avaliados.

A Figura 78 apresenta os valores de remoção de Fe, Cu e Zn durante as fases III, IV e V testadas em RL.

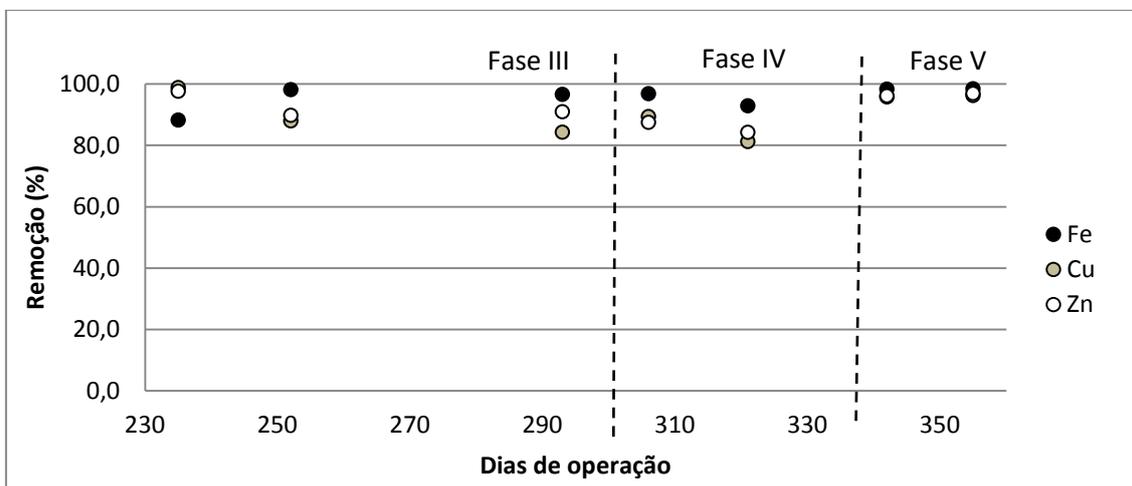


Figura 78 - Porcentagens de remoção dos metais em RL nas fases III, IV e V.

Fonte: produção do próprio autor.

A Tabela 47 apresenta as remoções médias de Fe, Cu e Zn e seus desvios.

Tabela 47 - remoções médias de Fe, Cu e Zn e seus desvios.

Fase (n amostras)	Fe		Cu		Zn	
	Rem. (%)	Desvio padrão	Rem. (%)	Desvio padrão	Rem. (%)	Desvio padrão
III <sup>(3)</sup>	97,4	1,1	86,1	2,6	90,4	0,8
IV <sup>(2)</sup>	94,9	2,8	85,3	5,8	85,9	2,3
V <sup>(2)</sup>	98,4	0,1	96,0	0,3	96,5	0,5

Fonte: produção do próprio autor.

Por meio dos valores expostos e do comportamento observado na Figura 78, pode-se observar que as modificações realizadas foram favoráveis para a remoção dos metais avaliados. Com o pH de entrada já em 4,0 tem-se altos valores de remoção de metais mesmo com relação DQO/Sulfato igual a 2,0. Como era de se esperar, o aumento da atividade das BRS por conta da

redução da DQO afluente resultou em maiores concentrações de metais precipitados, sendo assim favoráveis ao sistema também nesse sentido.

#### 5.2.10 Considerações sobre a influência da relação DQO/Sulfato em RE e RL

A fim de facilitar a visualização da influência da redução da relação DQO/Sulfato nos diferentes parâmetros analisados em RE e RL, a Tabela 48 classifica o efeito como positivo, negativo ou nulo.

Tabela 48 - Variações da relação DQO/Sulfato e seus efeitos em RE e RL entre as fases III e V.

Parâmetro (efeito desejado)	RE		RL	
	Fase III para IV	Fase IV para V	Fase III para IV	Fase IV para V
Rem. de DQO (aumento)	+	+	+	+
Rem. de Sulfato (aumento)	-	-	+	=
Prod. de Sulfeto (aumento)	-	-	+	=
Prod. de Alcalinidade (aumento)	-	-	=	=
pH efluente (aumento)	-	=	+	+
Prod. de ác. acético (redução)	-	+	+	+
Prod. de Ac. Vol. (redução)	+	+	+	+
Prod. de H <sub>2</sub> S (aumento)	=	-	- *	=
Rem. de Fe (aumento)	+	-	=	+
Rem. de Cu (aumento)	=	-	=	+
Rem. de Zn (aumento)	=	=	-	+

(=) Estatisticamente igual (ANOVA) ou não há tendência de aumento ou redução;

\*\* Mudança de fase (maioria em HS-)

Fonte: produção do próprio autor.

Para RE, com a redução da relação DQO/Sulfato, tem-se claramente um prejuízo na atuação das BRS no reator. Os pontos positivos observados nessas mudanças na concentração de DQO são fruto, muito provavelmente, da atuação de outros organismos que não as BRS, não sendo compatíveis com os objetivos do trabalho.

Para RL, na redução de concentração do lactato o único ponto negativo observado foi a redução do sulfeto de hidrogênio na fase gasosa, isso se deu, no entanto, devido a mudança da forma do sulfeto pela elevação do pH. Ou seja, só houve a transferência dessa quantidade da fase gasosa para a líquida na forma de HS<sup>-</sup>.

Portanto, pode ser dizer que as alterações de operação realizadas entre as fases surtiram um efeito desejável no meio, intensificando a atuação das BRS e alcançando resultados importantes nas remoções desejadas e nos produtos pretendidos.

### 5.3 Comparação entre RE e RL nas diferentes fases

Para comparar o desempenho dos reatores é necessário que os dados sejam observados em cada fase, uma vez que a escolha entre as duas fontes de carbono testadas depende das condições de operação. Para tanto, tem-se a Tabela 49.

Tabela 49 - Comparação entre RE e RL nas diferentes fases.

Fase		Rem. de DQO (%)	Rem. de Sulfato (%)	Prod. de Sulfeto (ug/L)	Prod. de Alkali. (mg/L)	pH eflu.	Prod. de ác. Acético (mg/L)	Prod. de Ac. Vol. (mg/L)	Prod. de H <sub>2</sub> S (mol/L)
I	RE	<b>35*</b>	<b>92*</b>	<b>116*</b>	<b>88*</b>	<b>5,03*</b>	163,4	40	<b>1,7E-03*</b>
	RL	13	0	18	0	3,82	<b>44,2*</b>	<b>0*</b>	7,7E-04
II	RE	<b>37*</b>	<b>86*</b>	<b>130*</b>	<b>110*</b>	<b>5,00*</b>	104,1	<b>50*</b>	<b>1,5E-03*</b>
	RL	19	58	67	101	4,59	<b>55,7*</b>	55	9,0E-04
III	RE	29	<b>87*</b>	<b>119*</b>	105	5,06	<b>115,6*</b>	<b>45*</b>	1,2E-03
	RL	<b>33*</b>	70	87	<b>266*</b>	<b>6,44*</b>	129,8	54	<b>6,7E-03*</b>
IV	RE	40	70	76	66	4,91	153,0	37	<b>1,3E-03*</b>
	RL	<b>46*</b>	<b>90*</b>	<b>127*</b>	<b>287*</b>	<b>7,15*</b>	<b>137,7*</b>	<b>33*</b>	9,2E-04
V	RE	48	58	45	38	5,00	73,4	24	<b>9,1E-04*</b>
	RL	<b>54*</b>	<b>84*</b>	<b>124*</b>	<b>225*</b>	<b>7,66*</b>	<b>34,1*</b>	<b>16*</b>	8,9E-04

**\*Resultado mais vantajoso para o tratamento**

Fonte: produção do próprio autor.

Como pode ser observado na Tabela 49, nas duas primeiras fases o reator RE se mostra mais indicado para o tratamento desse efluente em quase todos os parâmetros, exceção feita aos ácidos, que não eram produzidos em RL pela não atividade das BRS. Essa vantagem ocorre pela concentração de ácido láctico observado em RL em pH muito baixo, principalmente na fase I. Em termos de média, a fase II fica prejudicada pela transição entre os pH 3,0 e 3,5, sendo que RE ainda apresenta valores mais favoráveis, apesar de começar a ocorrer atividade das BRS em RL.

Da fase III em diante, no entanto, o reator RL se mostra muito melhor do que RE em todos os quesitos com exceção da produção de  $H_2S$ , que, como já discutido, é fruto da concentração de sulfeto na forma de  $HS^-$ . Ou seja, a redução da concentração de DQO afluente foi favorável em RL e não favorável em RE quando observada a atuação das BRS.

#### 5.4 *Biologia molecular*

A fim de avaliar a variedade de organismos ativos nos sistemas avaliados, têm-se os resultados do DGGE para RE tanto específico para as BRS quanto para todos os organismos na Figura 79, enquanto a Figura 80 se refere à RL. A Tabela 50 apresenta o que corresponde a cada amostra.

Tabela 50 – Amostras correspondentes ao DGGE.

Coluna	Amostra	Data	pH	DQO/Sulfato
1 e 9	Marcador	-	-	-
2	Inóculo	-	-	-
3	RE fase I	01/set	3	2
4	RL fase I	01/set	3	2
5	RE Fase IV	17/fev	4	1,5
6	RE fase V	19/mar	4	0,8
7	RL fase IV	17/fev	4	1,5
8	RL Fase V	19/mar	4	0,8

Fonte: produção do próprio autor.

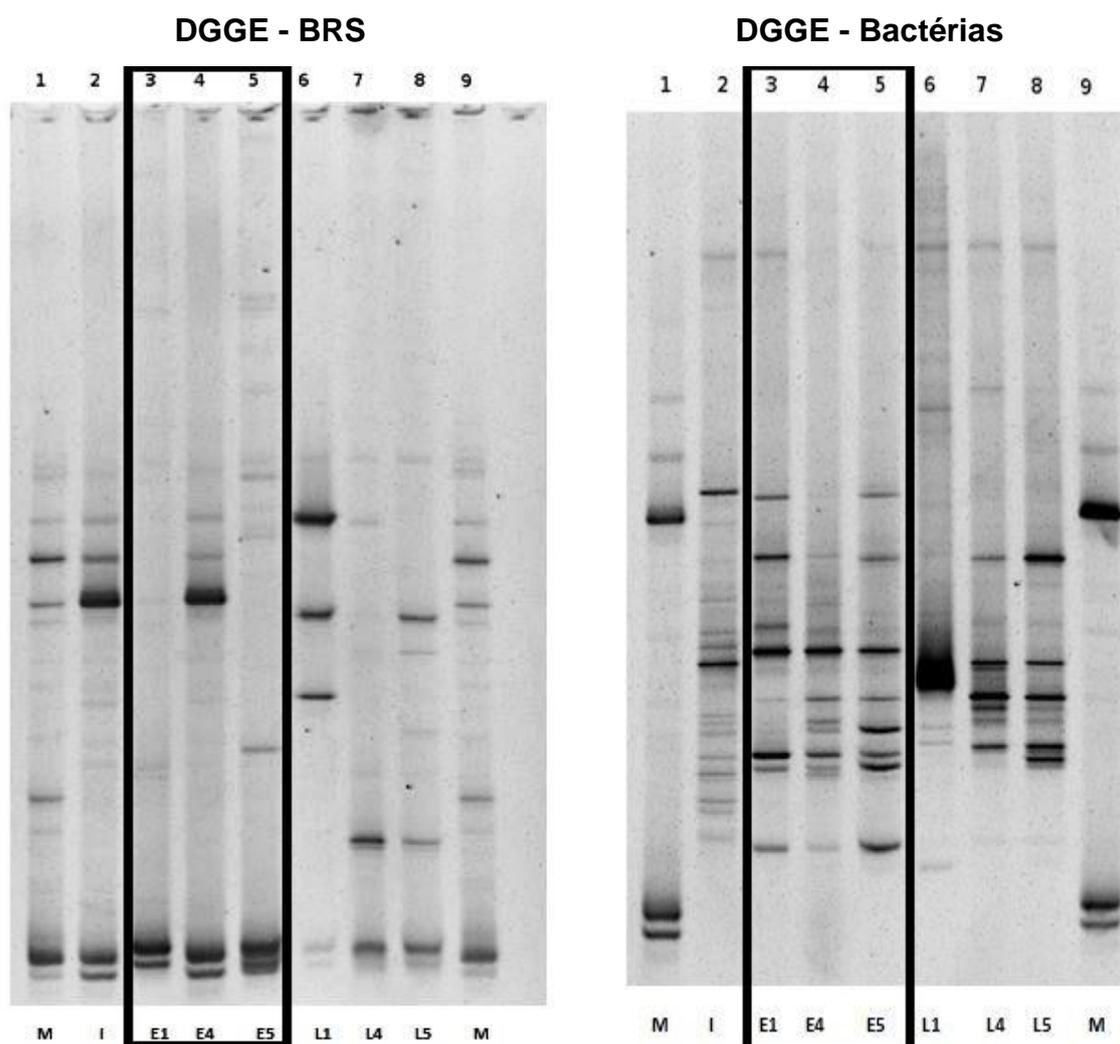


Figura 79 – Resultado do DGGE para RE.

Fonte: produção do próprio autor.

Cada faixa escura nas colunas representa um grupo de microrganismos ativos no sistema. Sendo assim, a comparação entre as colunas permitem discutir se houve mudanças nos grupos ativos, possibilitando avaliar, por exemplo, se as alterações realizadas favoreceram outras espécies.

Primeiramente é necessário salientar que a faixa denominada E4 para as BRS não representa a fase IV de RE com deveria, pois, por um erro no preparo da amostra, a mostra contendo a coleta da fase IV foi trocada pelo inóculo, no caso chamado de I, Assim sendo, no caso das BRS a comparação pode ser feita somente entre as fases I e V.

Sendo assim, visualizando a diversidade de BRS em RE, comparando o inóculo com as fases I e V tem-se que houve uma redução da variedade de espécies entre o inóculo e a fase I, fruto do stress causado pelo baixo pH e condições adversas iniciais e um aumento bem significativo entre as fases I e V, fortalecendo a hipótese de uma maior competição pelo substrato com a redução da relação DQO/Sulfato adotada por meio da observação de um número muito maior de bandas na coluna E5.

O mesmo comportamento pode ser observado no DGGE referente as bactérias como esperado, onde, apesar do maior número de bandas em todos os casos, a redução inicial e o aumento nas fases finais fica evidente com a comparação horizontal entre as colunas.

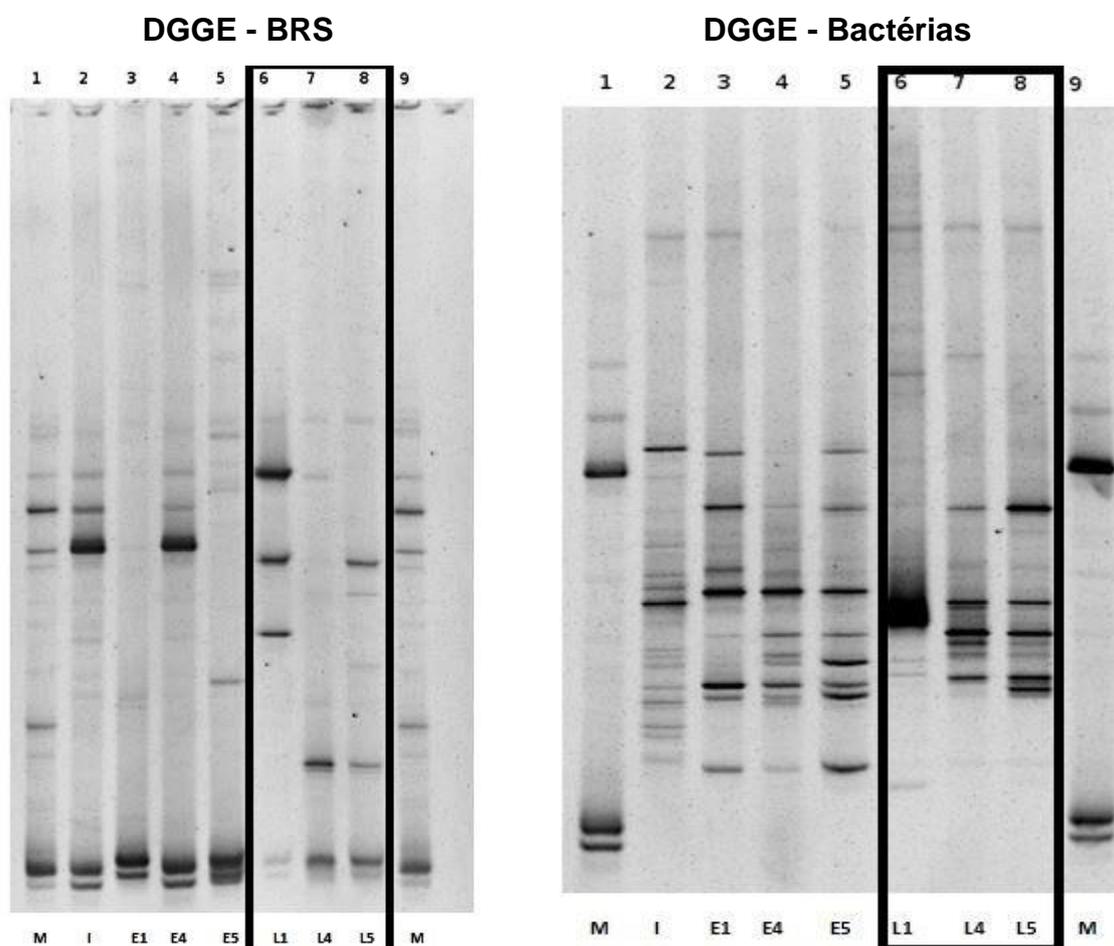


Figura 80 – Resultados de DGGE para RL.

Fonte: produção do próprio autor.

Com o observado na Figura 80, pode-se dizer que houve uma grande redução da diversidade biológica entre o inóculo e a fase I, seja para as BRS ou para as bactérias em geral. Fato esse é devido a concentração de ácido láctico no meio em decorrência do pH (3,0), como já explicitado e discutido em tópicos anteriores. Já entre as fases I e IV tem-se que houve uma grande alteração como já era esperado pelo comportamento dos parâmetros visualizados na operação, muito em decorrência da elevação do pH de 3,0 para 4,0 que facilitou o desenvolvimento e reprodução dos organismos. Entre as fases IV e V a alteração foi pequena, principalmente nas bactérias em geral.

Fato esse contribui para corroborar a hipótese de fortalecimento dos organismos que estavam realizando o tratamento, sendo que esses melhoraram continuamente a eficiência do processo com o passar das etapas.

## **6 Conclusões**

Para facilitar o apontamento das conclusões perante a análise dos dados apresentados esse tópico vai ser subdividido, avaliando as diferenças entre fases e entre os reatores.

### **6.1 Fases de RE**

Com relação ao reator que tem como fonte de carbono o etanol, pode-se dizer que não existe grandes variações no sistema diante de alterações, para a faixa testada, de pH, indicando uma robustez do sistema quanto a esse parâmetro.

A redução da relação DQO/Sulfato, por sua vez, apresentou prejuízo à atuação das bactérias sulfetogênicas pelo distanciamento de seu ponto ótimo (1,92). Com isso houve uma redução da atividade desses organismos e resultou em uma maior competitividade entre as espécies presentes no lodo, implicando em valores menos atrativos para o tratamento de DAM. Essa hipótese é corroborada pelos resultados na análise de DGGE realizada.

Assim sendo, as alterações realizadas entre as fases I e III não tiveram grande interferência no tratamento e as promovidas entre III e V foram prejudiciais à atuação das BRS.

### **6.2 Fases de RL**

Diferente do ocorrido em RE, a elevação do pH foi altamente favorável ao tratamento em RL, uma vez que em pH 3,0 não havia atividade das BRS devido ao acúmulo de ácido lático. Com a alteração para as fases II e III houve uma significativa melhora no sistema.

Ao contrário do observado em RE, a redução da relação DQO/Sulfato resultou em uma maior atividade das BRS em RL e, conseqüentemente, em um efluente bem mais interessante em relação ao outro reator. Isso aconteceu pelo favorecimento desses organismos com a redução do lactato disponível pela alta afinidade das sulfetogênicas com esse substrato e menor quantidade de DQO excedente no meio.

Com isso, tem-se que as alterações promovidas em todas as fases tiveram efeito positivo no sistema, melhorando o tratamento de DAM nas condições testadas.

## REFERÊNCIAS

- AKCIL, A.; KOLDAS, S. Acid Mine Drainage (AMD): causes, treatment and case studies. **Journal of Cleaner Production**, v. 14, n. 12-13, p. 1139–1145, jan. 2006.
- ARCHILHA, N. C. et al.. Effect of feeding strategy and COD/sulfate ratio on the removal of sulfate in an AnSBBR with recirculation of the liquid phase. **Journal of environmental management**, v. 91, n. 8, p. 1756–65, ago. 2010.
- ASSIS, I. R. **Mitigação da lixiviação de arsênio, ferro e enxofre e revegetação de substratos minerados em área de ocorrência de drenagem ácida**. 89 p. Dissertação (pós graduação em solos e nutrição de plantas). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2006.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. **NBR 10004**: Resíduos sólidos: classificação. Rio de Janeiro. ABNT, 1987.
- BARBOSA, L. P.; BERTOLINO, S. M.; FREITAS, P. C.; OLIVEIRA, V. A.; PINA, P. D.; LEÃO, V. A.; TEIXEIRA, M. C. Effects of different COD/Sulfate ratios on the growth of metal tolerant Sulfate Reducing Bacteria (SRB), Biohydrometallurgy: A meeting point between microbial ecology, metal recovery process and environmental remediation. **Proceedings of Biohydrometallurgy**. Bariloche, p. 569-572, 2009.
- BERTOLINO, S. M.; VELOSO, T. C.; LEÃO, V. A. **Performance of a lactate-fed UAsB reactor treating sulfate containing waters**. p. 277–280, 2011.
- BUSSAB, W. O. & MORETTIN, P. A. **Estatística Básica**, 4 ed., São Paulo Atual, 1987.
- CAMPANER, V. P., SILVA, W. L. Processos físico-químicos em drenagem ácida de minas em mineração de carvão no sul do Brasil. **Química Nova**, v. 32, p. 146-152, 2009.
- CERVANTES, Francisco J.; PAVLOSTATHIS, Spyros G.; VAN HAANDEL, Adrianus C.. **Advanced Biological Treatment Processes for Industrial Wastewaters: Principles and Applications**. Hove (reino Unido): Iwa Publishing. 345 p. 2006.
- CHERNICHARO, C. A. DE L., **Reatores anaeróbios. Princípios do tratamento Biológico de águas residuárias**. DESA/UFMG. Belo Horizonte – MG, v.5, 2007.
- COLLERAN, E.; FINNEGAN, S.; LENS, P. Anaerobic treatment of sulphate-containing waste streams. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 67, n. 1, p. 29–46, jan. 1995.
- COUTO, P. T. **Tratamento da drenagem ácida sintética em reator batelada**. 2014. 32 f. TCC (Graduação em engenharia química) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, 2014.

DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; FORESTI, E. Anaerobic Degradation of Synthetic Wastewaters at Different Levels of Sulfate and COD/Sulfate Ratios in Horizontal-Flow Anaerobic Reactors (HAIB). **Environmental Engineering Science**, v. 24, n. 3, p. 383–393, abr. 2007.

DILALLO, R., ALBERTON, O.E. Volatile acids by direct titration. **Journal of water pollution control federation**, v. 33, n.4, p. 356-356. 1961.

EATON, A. D.; CLESCERI, L. S.; RICE, E.W.; GREENBERG, A. E.; FRANSON, M. A. H. (Ed.). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21. ed. Washington, D.C.: American Public Health Association, 2012.

FORESTI, E.; ZAIAT, M; VALLERO, M. Anaerobic processes as the core technology for sustainable domestic wastewater treatment: consolidated applications, new trends perspectives and challenges. **Reviews in Environmental Science and Bio/Tecnology**, v.5, p. 3-19, 2006.

FOSSATTI, J. ; Kautzmann, R. M. ; Sampaio C. H. ; Bizani D. . **Caracterização físico-química e comparativa de drenagem ácida (dam) gerada em laboratório e naturalmente formada em áreas de mineração de carvão**. in: iii congresso nacional de carvão mineral, 2011, Gramado - RS. Anais do III Congresso Nacional de Carvão Mineral, 2011.

GAZEA, B., ADAM, K. KONTOPOULOS, A. A review of passive systems for the treatment of acid mine drainage. **Minerals Engineering** n. 9 (1) p. 23 – 42, 1995.

GLEISNER, M.; HERBERT, R. B.; FROGNER KOCKUM, P. C. Pyrite oxidation by *Acidithiobacillus ferrooxidans* at various concentrations of dissolved oxygen. **Chemical Geology**, v. 225, n. 1-2, p. 16–29, jan. 2006.

GÓMEZ, Dennys Kristalia Villa. **Simultaneous sulfate reduction and metal precipitation in an inverse fluidized bed reactor**. Delft (Holanda): Unesco-ih, Institute For Water Education, 2013. 209 p.

HAO, T.W., XIANG, P.Y., MACKKEY, H.R., CHI, K., LU, H., CHUI, H.K., VAN LOOSDRECHT, M.C.M., CHEN, G.H. A review of biological sulfate conversions in wastewater treatment. **Was Res**, n. 65, p. 1-21. 2014.

ISA, Z.; GRUSENMEYER, S.; VERSTRAETE, W. Sulfate reduction relative to methane production in high-rate anaerobic digestion: technical aspects. **Environmental Microbiology**, v. 51, n. 3, p. 580-587, 1986.

JALALI, K. e BALDWIN, S.A. The role of sulphate reducing bacteria in copper removal from aqueous sulphate solutions. **Water Res**. n. 34, p. 213 – 224, 1999.

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

KAKSONEN A.H., PUHAKKA J.A. Sulfate Reduction Based Bioprocesses for the Treatment of Acid Mine Drainage and the Recovery of Metals, **Eng. Life Sci.**, n. 7, v. 6, p. 541–564. 2007.

- KIM, G.-M. et al.. Treatment of synthetic acid mine drainage using rice wine waste as a carbon source. **Environmental Earth Sciences**, 19 out. 2013.`
- KONTOPOULOS, A. **Acid mine drainage control**. In: Castro, S.H., Vergara F. e Sánchez, M.A., (Eds.). Effluent Treatment in the Mining Industry, University of Concepción, Chile. p.57-118. 1998.
- KOSCHORRECK, M. Microbial sulphate reduction at a low pH. **FEMS Microb Ecol**, n. p.64, 329 – 342. 2008
- LENS P. N. L., HULSHOFF P. L. (eds). Environmental technologies to treat sulfur pollution: principles and engineering. **IWA Publishing, London**, p. 47-85, 2010.
- LENS, P. N. L.; VISSER, A.; JASSEN, A. J. H.; HULSOFF POL, L.W.; LETTINGA, G. Biotechnological treatment of sulfate-rich wastewaters - Critical Reviews. In: **Environmental Science and Technology**. v. 28, n. 1, p. 41-88, 1998.
- LIAMLEAM, W.; ANNACHHATRE, A. P. Electron donors for biological sulfate reduction. **Biotechnology advances**, v. 25, n. 5, p. 452–63, 2007.
- MELLO, J. W. V.; DIAS, L. E.; CORREA, M. L. T. **Drenagem ácida: avaliação do potencial de ocorrência, mitigação e revegetação de substratos sulfetados**. In: ALVAREZ V., V. H. et al.; LOPES, A. S.; LIMA, J. M.; GUILHERME, L. R. G.; MARQUES, J. J.; NILTON CURI, N., (Eds). Tópicos em ciência do solo. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, v.3. p. 430, 2003.
- MUYZER, G.; STAMS, A. J. M. The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. **Nature reviews. Microbiology**, v. 6, n. 6, p. 441–54, jun. 2008.
- PAGNANELLI, F.; CRUZ VIGGI, C.; CIBATI, A.; UCCELLETTI, D.; TORO, L.; PALLESCHI, C. Biotreatment of Cr(VI) contaminated waters by sulphate reducing bacteria fed with ethanol. **Journal of Hazardous Materials**, v. 199-200, p. 186-192, 2012.
- PIMENTA, D.F.N. **Efeito da fonte externa de carbono na partida de reator UASB no tratamento de drenagem ácida de minas**. Dissertação (mestrado em ciência e engenharia ambiental). Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas. 2014. 73p.
- POSTGATE, J. R. **The Sulphate Reducing Bacteria**, 2nd edition, Cambridge University Press, Cambridge, London, 1984.
- RIPLEY, L.E.; BOYLE, W.C.; CONVERSE, J.C. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. **Journal of water pollution control federation**, v. 58, n.5, p. 406-411. 1986.
- RODRIGUEZ, R. P.; OLIVEIRA, G. H. D; RAIMUNDI, I. M.; ZAIAT, M. Assessment of a UASB reactor for the removal of sulfate from acid mine water. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 74, p. 48-53, 2012.

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

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, L. F. O.; QUEROL, X.; BOIT, K. M.; FDEZ-ORTIZ DE VALLEJUELO, S.; MADARIAGA, J. M. Brazilian coal mining residues and sulphide oxidation by Fenton's reaction: An accelerated weathering procedure to evaluate possible environmental impact. **Journal of Hazardous Materials**, v. 186, p. 516-525, 2011.

SILVAS, F. I. C.. **Biotecnologia aplicada ao tratamento de drenagem ácida de mina**. 2010. 123 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

TRINDADE, R.B.E.; Soares, P.S.M. Tecnologia de Sistemas Passivos para o Tratamento de Drenagem Ácida de Minas. **Série Tecnologia Ambiental**, 30, CETEM, 52 p. 2004.

VELASCO, A., RAMÍREZ, M., VOLKE-SEPÚLVEDA, T., GONZÁLEZ-SÁNCHEZ, A., REVAH, S. Evaluation of feed COD/sulfate ratio as a control criterion for the biological hydrogen sulfide production and lead precipitation. **Journal of Hazardous Materials** p. 151, 407. 2008.

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.