

Tratamento de efluente secundário proveniente do beneficiamento do carvão mineral utilizando bactérias com capacidade redutora de sulfato

Treatment of secondary effluent from the beneficiation of coal using bacteria with sulfate-reducing capacity

RESUMO

O descarte de efluentes da mineração tem sido alvo de diversos estudos, na tentativa de adequação aos padrões previstos em lei. O sulfato é um parâmetro que deve ser acompanhado e tratado visando sua redução, de maneira, a atender as normas ambientais. O uso de bactérias redutoras de sulfato (BRS) tem merecido atenção nos últimos anos. Neste trabalho foram analisadas BRS em águas excedentes tratadas em uma ETAR provenientes do processo de beneficiamento do carvão mineral. Bioprocesso, utilizando as linhagens *S. marcescens*, *M. luteus*, *A. liquefaciens*, foi levado em escala de bancada e em recipientes com parâmetros controlados. O efluente foi preparado e suplementado de acordo com as necessidades microbiológicas. As análises laboratoriais empregadas foram: pH, Eh, OD, DBO_{5/20}, DQO, sulfato e proteínas totais, nos tempos inicial e final do experimento. *A. liquefaciens* apresentou melhor desempenho no seu desenvolvimento vegetativo, maior capacidade redutora de sulfato (66%) e redução das taxas de DBO e DQO, de 80% e 55,5%, respectivamente.

PALAVRAS CHAVE: Bactérias, Sulfato, Efluente, Biotratamento.

ABSTRACT

Discharging effluents from mining has been the subject of several studies in an attempt to adapt to the standards prescribed by law. Sulfate is a parameter that must be monitored and treated aiming at its reduction, in order to meet environmental standards. The use of sulfate-reducing bacteria (SRB) has received attention in recent years. In this work SRB were analyzed in surplus treated water from the treatment plant in a process of beneficiation of coal. Bioprocess, using strains *S. marcescens*, *M. luteus*, *A. liquefaciens*, was led in bench scale and in containers with controlled parameters. The effluent was prepared and supplemented in accordance with the microbiological requirements. Laboratory tests were employed: pH, Eh, DO, DBO_{5/20}, COD, sulfate and total protein in the initial and final time of the experiment. *A. liquefaciens* showed better performance in its vegetative growth, higher reductive capacity sulfate (66 %) and reduced rates of BOD and COD, 80 % and 55.5 %, respectively.

KEYWORDS: *Bacteria, Sulfate, Effluent, Biotreatment.*

Daiani Woloszyn

Graduanda Curso de Engenharia Ambiental do UNILASALLE.
Canoas, RS, Brasil
daianicamara@yahoo.com.br;

Priscylla Andrade Volkart

Graduanda Curso de Química e Bolsista de Iniciação Científica/CNPq, UNILASALLE.
Canoas, RS, Brasil
priscyvolk@yahoo.com.br;

Delmar Bizani

Doutor em Microbiologia e Bioquímica de Microrganismos. Prof. de Graduação e Pós Graduação UNILASALLE.
Canoas, RS, Brasil
delmar@unilasalle.edu.br

INTRODUÇÃO

A indústria da mineração produz significativas quantidades de efluentes líquidos, como contrapartida de seus processos, cujas concentrações de compostos inorgânicos e metais, entre outros componentes, estão bem acima dos padrões máximos de lançamento estabelecido pela legislação.

Desde o início do processamento do carvão, o contato do *Run of Mine* (ROM), que é o minério bruto extraído diretamente da mina, com a água, faz com que ocorra o carreamento dos elementos químicos, causando alteração na qualidade físico-química da água excedente (UBALDO; SOUZA, 2008).

No processo de beneficiamento, conhecido como jigagem, a água é utilizada para oxidar o minério. Os líquidos excedentes deste processo proporcionam uma solução aquosa, fortemente ácida (conhecida como drenagem ácida de mina, DAM). Esta é rica em sulfato e ferro (nas formas Fe^{2+} e Fe^{3+}), além de outros metais associados, causando a poluição do solo e da água, prejudicando o abastecimento de água, as atividades de pecuária e agricultura, gerando altos impactos sociais e econômicos (CHAVES, 2008).

Devidos aos valores de pH muito baixos (1,5 a 4,0), as descargas ácidas da mineração acabam sendo despejadas em cursos d'água, alterando a natureza dos mananciais. As elevadas concentrações de metais como ferro dissolvido, se tornam tóxicos à medida que ficam livres nas células ou fracamente ligados à superfície das proteínas, DNA, lipídeos ou em outras moléculas (LAUS *et al.* 2006). Segundo Billiard *et al.* (2004), uma vez no ambiente aquático, esses metais podem permanecer em solução como íons livres ou na forma de complexos. A captação destes metais na água pelos organismos vivos acontece,

principalmente, na forma de ânions livres, através da superfície respiratória ou atravessando diretamente as membranas da célula vegetal e das bactérias. Assim muitos metais são transferidos via cadeia alimentar na forma orgânica, já outros são incorporados pelos animais bentônicos por meio da ingestão de sedimentos.

Analisando especificamente o processo de beneficiamento, o sulfato é um parâmetro que precisa ser acompanhado e tratado. Sendo assim, os métodos tradicionais de tratamento podem não ser os mais eficazes na remoção deste parâmetro, havendo a necessidade de desenvolvimento de meios alternativos (novas técnicas) para o seu controle.

Atualmente o uso de bioprocessos aparece como boa alternativa nos processos de remediação do meio ambiente. A importância dessa tecnologia é evidente, devido ao baixo custo dos sistemas que empregam a biomassa aliada alta eficiência dos microrganismos para capturar elementos químicos, a partir de soluções aquosas. Isto comprova que o biotratamento pode ter um custo menor, quando comparado aos métodos tradicionais atualmente adotados por empresas (ALMEIDA, 2005). Tanto a capacidade de remoção, como os mecanismos de acumulação variam amplamente, de acordo com a diversidade de espécie microbiana, até mesmo dentro da própria linhagem.

As bactérias redutoras de sulfato (BRS) são microrganismos quimiolitotróficos, que podem ser divididos em quatro grupos: bactérias gram-negativas mesófilas, bactérias gram-positivas formadoras de esporos, bactérias termofílicas, e arqueobactérias. As BRS atuam numa atmosfera, preferencialmente de microaerofilia a anaerobiose estrita. Elas se caracterizam por assimilar o

sulfato e utilizar hidrogênio como fonte de energia, gerando rapidamente H_2S (CHAPELLE, *et al.*, 2009).

A via desassimilativa respiratória de redução de sulfato é restrita às BRS, nestas o sulfato é o aceptor final de elétrons para a geração de energia, com consequente geração de sulfetos. A variabilidade de fontes de carbono utilizadas pelas BRS inclui alcoóis, ácidos orgânicos, ácidos graxos em geral (C_3 a C_{18}) e hidrocarbonetos. Algumas subespécies, no entanto, têm uma capacidade limitada de metabolizar estes substratos e as preferências têm sido utilizadas para dividir as BRS em grupos diferentes em função do seu aspecto de crescimento (CORTÉS, 2005).

Variação da capacidade redutora, bem como o comportamento bacteriano, depende da combinação dos fatores intrínsecos de crescimento com a intensidade e disponibilidade dos fatores externos. O pH, a temperatura, ausência ou presença de determinado nutriente, sua atividade oxi-redutora e metais, também influenciam no mecanismo atuante e consequentemente na eficiência de remoção do sulfato (POSTGATE, 1984; RUBIO *et al.*, 2008).

O estudo para o desenvolvimento de tecnologia de remoção biológica de sulfato utilizando de BRS em solos, com característica gesso-ferruginoso, apontam horizontes promissores, tanto para a redução em ambientes naturais como em sistema de bioengenharia, segundo Kijjanapanich *et al.* (2013). Assim como na matriz sólida, os bioprocessos também podem ser aplicados em líquidos, como por exemplo, em efluentes da mineração de carvão (SAHINKAYA *et al.* 2011). Neste último caso os autores citam uma remoção biológica de 99,9% de íons metálicos presente em DAM.

Neste trabalho objetivou-se estudar a capacidade redutora de sulfato em águas excedentes do processo de beneficiamento do carvão mineral, através do uso de linhagens bacterianas em sistemas de bioprocesso. A finalidade do biotratamento foi procurar atender assim a legislação ambiental vigente que versa sobre seus padrões máximos de descarte em efluentes.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostragem

Durante o período de julho de 2011 a fevereiro de 2012 foram feitas coletas de água (figura 1), na saída da estação de tratamento de águas residuais (ETAR) de uma unidade de mineração, situada no interior do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. As amostragens foram realizadas em recipientes de 5L. Todas foram feitas seguindo normas pré-estabelecidas, relativa coleta de água para análise (EPA, 2011).

Caracterização do Efluente

Nesse período foram realizadas análises mensais dos parâmetros de monitoramento, a fim de se obter um perfil da qualidade físico-química da água, após o processo de tratamento do efluente.

Foram analisados os seguintes parâmetros: pH, Al, Fe, Mn, Sulfatos, Pb e Hg.

Todas as análises físico-químicas foram feitas a partir de amostras em triplicata e seguiram as determinações segundo a metodologia definida pelo “*Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater*” (APHA, 2005).

Bioprocesso

Do volume total da última amostragem foi separada uma alíquota para a determinação, caracterização e monitoramento dos parâmetros iniciais do efluente. O restante da amostra foi fracionado em *erlenmeyers* de 50 mL, totalizando 15 frascos utilizados para o estudo do bioprocesso (12 frascos para o bioprocesso e 3 considerados referência - sem bactérias). A suplementação foi feita proporcional ao volume final para cada frasco (0,5 g/L de L-lactato de sódio, 5 g/l de cloreto de sódio, 0,2 g/l de cloreto de potássio), após foram fechados e esterilizados em autoclaves a 121° C, a 0,5 atm por 15 minutos. A partir deste procedimento o efluente passou a ser denominado de efluente preparado. O pH final do efluente preparado foi de 7,1, não havendo

necessidade de ajuste.

Os frascos foram mantidos refrigerados até a realização das análises físico-químicas inicial (pH, Eh [potencial de oxi-redução], OD [oxigênio dissolvido], DBO_{5/20} [demanda bioquímica de oxigênio/5 dias/20° C], DQO [demanda química de oxigênio], Proteínas Totais e Sulfato) e a inoculação dos microrganismos.

Foram utilizadas três linhagens bacterianas, provenientes do meio ambiente e estocados na bacterioteca do próprio laboratório de microbiologia, que foram: *Serratia marcescens*, *Micrococcus luteus*, *Acetobacter liquefaciens*.

A certificação das linhagens foi feita previamente, seguindo os protocolos de identificação genética, segundo Kemp e Aller, (2004), que consistiu na extração de ácidos nucléicos das amostras bacterianas e a amplificação parcial do gene ribossomal 16S (16S rDNA) para cada bactéria, utilizando iniciadores universais para este gene. Os produtos amplificados foram separados em vetores plasmidiais por meio de clonagem, e então sequenciados. As sequências gênicas assim geradas foram identificadas por meio de comparações e confirmadas com sequências gênicas de organismos conhecidos depositados

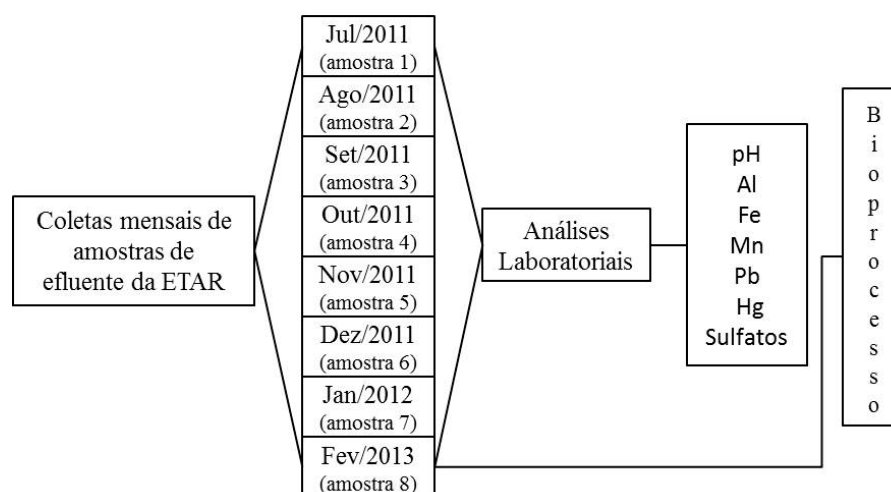


Figura 1– Fluxograma amostral de efluente e a sequência de análises laboratoriais até a realização do bioprocesso.

em bancos gênicos.

Para a inoculação das linhagens foi precedido uma cultura de todas as bactérias, denominado de pré-inóculo, em 200 mL de caldo TSB (Trypticase Soy Broth - BD™) ou CASOY (Caldo-peptona caseína de farinha de soja - MERCK), incubadas por 24 horas a $32 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Do pré-inóculo de cada cultura bacteriana foi retirado uma alíquota e inoculado nas sequências dos frascos correspondentes do bioprocessamento, de modo que, ao final da inoculação todos os frascos deviam apresentar uma absorvância de 0,300-0,500 (Abs/600 nm). Após a inoculação os frascos foram colocados em incubadora orbital tipo *Shaker* à temperatura a $32 \pm 0,5^\circ\text{C}$, e em agitação orbital constante de 80 ciclos por minuto, por um período de 30 dias. Todo o experimento foi conduzido em quadruplicata.

A avaliação do crescimento foi feito através do acompanhamento da leitura da densidade óptica (D.O.),

segundo o protocolo para mensuração de microrganismos por meio de espectrometria de absorvância UV/VIS, proposto por García-Rubio *et al.*, (2004). Para tanto, foi retirado de forma asséptica, alíquotas de cada frasco do bioprocessamento e lidos em espectrofotômetro GEHAKA Mod. UV 380G, em um comprimento de onda de 600 nm, com intervalo de tempo entre pontos de dois dias, totalizando 22 pontos.

Ao final do período de experimento, o conteúdo de cada frasco foi filtrado em sistema *Holder*, através de uma sequência de membranas, com porosidades decrescentes variável de 1,5 até 0,45µm, para a retirada das células. Posteriormente, amostras foram submetidas às análises físico-químicas final (pH, Eh, OD, $\text{DBO}_{5/20}$, DQO e Sulfato), seguindo a metodologia definida pela APHA (2005). Apenas a determinação de proteínas totais foi realizada a partir do sobrenadante

total antes do processo de filtração, pelo Método Colorimétrico do Biureto.

Todo o experimento foi executado no Laboratório de Microbiologia do Instituto de Química do Unilasalle-Canoas/RS.

Estatística

Os resultados obtidos foram analisados com o auxílio do programa de computação *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS-VERSO 16.0). As variáveis qualitativas foram analisadas pela estatística descritiva e expressos pela média e desvio padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período de julho de 2011 a fevereiro de 2012, foram realizadas análises com o objetivo de mostrar o perfil físico-químico do efluente após o processo de tratamento. Os resultados estão descritos na tabela 1.

Tabela 1-Resultados das análises de monitoramento dos parâmetros físico-químicos do efluente bruto da ETAR, no período de julho de 2011 a fevereiro de 2012.

Amostras	Parâmetros (mg L^{-1})						
	pH	Al	Fe (total)	Mn	Sulfato	Pb	Hg
01	8,09	0,1240	0,0445	0,08	1023	< 0,002	< 0,00050
02	6,85	0,4095	1,0405	1,093	1110	< 0,002	< 0,00050
03	7,70	0,3405	0,5905	1,0685	1331,5	< 0,002	< 0,00050
04	7,75	0,3085	0,1975	0,633	1466,5	< 0,002	< 0,00006
05	7,80	0,2490	0,069	1,3345	1958,5	< 0,002	< 0,00050
06	7,60	0,0215	0,061	1,64	2266	< 0,010	< 0,00006
07	6,95	0,1755	0,2855	4,2	2355,35	< 0,010	< 0,00005
08	7,55	0,1955	0,012	0,5865	2259	< 0,010	< 0,00006
Média	7,54	0,228	0,287	1,329	1721,231	0,005	0,00028
DP	0,42	0,125	0,358	1,256	550,620	0,004	0,00024
Res. CONAMA N° 357*	6,0-9,0	0,1	0,3	0,1	250	0,01	0,0002
Res. CONAMA N° 430	5,0-9,0	-	15,0	1,0	-	0,5	0,01

*- Referente aos padrões de qualidade de água para Classe II

A resolução CONAMA nº 430 (BRASIL, 2011), que dispõe sobre as definições e padrões de lançamento de efluentes, vem complementar e alterar a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Em seu artigo 3º resolve: “Os efluentes de qualquer fonte poluidora somente poderão ser lançados diretamente nos corpos receptores após o devido tratamento e desde que obedecem às condições, padrões e exigências dispostos nesta Resolução e em outras normas aplicáveis”. Portanto, todas as unidades de tratamento de efluente de qualquer origem, somente poderão lançar diretamente suas águas no corpo receptor, desde que estas atendam as disposições da lei.

Alguns parâmetros, como o caso do sulfato, não há uma determinação precisa para seus níveis, quando se trata de água de efluente. Nos processos de tratamento de efluente, como numa ETAR proveniente do beneficiamento de carvão, a correção da acidez do efluente, bem como, a neutralização química e sequestro dos componentes presentes, permitem o aumento dos níveis de sulfato. Grande parte desse sulfato será reduzida pela via bacteriana a sulfeto e derivados.

Neste levantamento observa-se que o sulfato, dentre outros, apresentou valores elevados, mesmo

este não tendo um limite máximo, a presença no meio e a sua degradação pela via biológica pode acarretar numa série de problemas. Sua ingestão direta pode provocar alterações do trato intestinal, com efeito pernicioso. Já no abastecimento industrial, o sulfato pode provocar incrustações nas caldeiras e trocadores de calor. E na rede de esgoto, em trechos de baixa declividade, onde ocorre o depósito da matéria orgânica, o sulfato pode ser transformado em sulfeto, provocando a exalação do gás sulfídrico, que resulta em problemas de corrosão do concreto dos coletores, além de ser tóxico e possuir cheiro forte (CETESB, 2007).

A redução de sulfato observada neste experimento, principalmente pelo *A. liquefaciens*, ocorreu pela via reductiva desassimilativa do íon sulfato, na qual este íon atua como agente oxidante para a metabolização da matéria orgânica. Nesse processo apenas uma pequena parcela do enxofre reduzido é assimilada pelos microrganismos, sendo a maior parte excretada na forma de íon sulfeto normalmente hidrolisado a H₂S livre (POSTGATE, 1984). Já a presença do sulfato em líquidos de escoamento provenientes da mineração é o elemento interferente no nível de acidez e na concentração dos metais dissolvidos,

uma vez que essas características dependem do tipo e quantidade de sulfetos e da presença ou ausência de materiais alcalinos (FUNGARO; IZIDORO, 2006).

Neste trabalho observa-se uma variação crescente nos valores, devido aos interferentes sazonais referentes ao período do ano. Nos meses em que os índices pluviométricos coincidem com os meses de maiores intensidade, fica evidente a diluição dos compostos e, portanto valores menores para a maioria dos parâmetros. O contrário, nos meses que corresponde aos menores índices de pluviosidade, pode-se verificar uma concentração de componentes solúveis, o que elevaria as médias dos parâmetros analisados.

A análise do efluente, da ETAR estudada, mostrou valores de Pb, Hg, Fe e pH dentro do limites estabelecidos pela legislação, porém Al, Mn e SO₄ apresentam níveis elevados mesmos após tratamento. Para tanto esse efluente ainda necessita de outro processo de tratamento que remova ou reduza seu principais componentes residuários. A análise do efluente preparado, antes do bioprocessamento, apresentou valores diferenciados para diversos parâmetros, conforme a tabela 2.

Os valores de DQO e DBO,

Tabela 2 – Médias das análises físico-químicas do efluente preparado e analisado antes do bioprocessamento, de acordo com os parâmetros abaixo.

Parâmetro	Valores Iniciais	Método	Limite de Detecção
pH	7,05	Elétrico/Eletrodo DIGIMED Mod. DM-23-DC	-
Eh (mV)	+310	Elétrico/Eletrodo OAKTON WD 35607-10	-
OD (mg L ⁻¹)	4,20	St. Meth. 21 st -Method 4500-OC	0,1
DBO _{5/20} (mg L ⁻¹)	1260	St. Meth. 21 st -Method 5210-B	0,1
DQO (mg L ⁻¹)	3359	St. Meth. 21 st -Method 5220-B	0,010
Sulfato (mg L ⁻¹)	1890	St. Meth. 21 st -Method 4500 SO ₄ ⁻² E	0,057
Proteínas Totais (g dL ⁻¹)	1,79	Método Colorimétrico do Biureto (LabTest® Diagnostic-BR)	0,6

assim como o sulfato, são considerados elevados para águas de saída de uma ETAR, isso indica a existência ainda de muita matéria orgânica.

A relação DQO/DBO apresentada para esse efluente foi de 2,7, que segundo Jardim e Canela (2004), caracterizam efluentes pouco biodegradáveis. De acordo com os autores, a relação nos fornece uma ideia do grau de biodegradabilidade, ou seja, o tipo de oxidação que será efetiva na destruição da carga orgânica. No caso de um efluente apresentar uma relação DQO/DBO < 2,5, este será de fácil biodegradabilidade. Quando a relação apresentar valores entre 2,5 e 5,0, são pouco biodegradáveis e para valores maiores de 5, então o processo biológico tem pouca chance de sucesso. Nesse caso a oxidação química acaba sendo o processo alternativo devido o efluente conter elementos biorefratários.

Na tabela 3 são apresentados os resultados do desempenho das linhagens bacterianas no bioprocessamento utilizando o efluente preparado, de acordo com os seguintes parâmetros: pH, Eh, OD, DBO_{5/20}, DQO e Proteínas Totais. Os valores correspondem às

médias das triplicatas analisadas para todas as variáveis do bioprocessamento.

A estabilidade do pH foi uma característica mantida durante todo o experimento, sem a necessidade de correção. A diminuição do OD e a leve redução do Eh eletropositivo, indicam um meio ainda fortemente oxidante.

O acompanhamento das linhagens bacterianas através da densidade óptica (DO) destaca o *A. liquefaciens*, como bactéria com maior desempenho de crescimento vegetativo em todo o bioprocessamento (figura 2). Também apresentou maior taxa de proteínas totais, o que reflete numa maior adaptação ao efluente preparado. Sua atividade redutora sobre o sulfato foi de 66%, enquanto que, *S. marcescens* e *M. luteus* apresentaram uma taxa de 21% e 34%, respectivamente.

Valores de potencial Eh acima de +100,0 mV são indicativos de produção de H₂S. Isto por um lado leva os microrganismos responsáveis pela redução do sulfato a terem uma taxa de crescimento alta e estarem associados à presença de biofilme. A concentração OD em um corpo d'água qualquer é controlada por vários fatores, sendo um deles a solubilidade do oxigênio em água. As

perdas de oxigênio são causadas pelo consumo, pela decomposição da matéria orgânica (oxidação), por perdas para a atmosfera, pela respiração de organismos aquáticos, nitrificação e por fim pela oxidação química abiótica de substâncias, por exemplo, pelos íons metálicos (Fe⁺² e Mn⁺²) (BAHRI, BRISSAUD, 2004).

O efluente gerado na ETAR apresenta sólidos de baixa biodegradabilidade, no entanto grande parte das indústrias extrativistas possui apenas um sistema primário para tratamento desse efluente. Através da análise dos valores de DBO e DQO vários autores, entre eles Jardim e Canela (2004), Rodrigues (2004), Lange et al. (2006) e Morais et al. (2006), estimam faixas de biodegradabilidade para efluentes de diferentes fontes poluidoras.

Através da relação DQO/DBO achada neste trabalho é possível observar que além da baixa degradabilidade do efluente, esse ainda contém uma carga orgânica muito grande, mesmo após o tratamento da ETAR. Entretanto ao observar a figura 3, após o bioprocessamento, verifica-se a mudança de padrão da degradabilidade, tornando-se um efluente com líquido

Tabela 3 – Médias das análises físico-químicas de um efluente preparado e analisado após bioprocessamento, utilizando as linhagens bacterianas de *S. marcescens*, *M. luteus*, *A. liquefaciens*.

Parâmetros	Unidade	Média do desempenho bacteriano (Média±DP)		
		<i>S. marcescens</i>	<i>A. liquefaciens</i>	<i>M. luteus</i>
pH	-	6,5±0.8	5,65±0.6	7,07±0.2
OD	mg L ⁻¹	1,02±0.5	2,8±0.5	2,09±0.4
Eh	mV	+109±47	+130±72	+110±31
DBO ₅	mg L ⁻¹	776±22.5	560±43	709±18
DQO	mg L ⁻¹	965±26.5	668±24	890±21
Relação DQO/DBO ₅	-	1,2	1,2	1,2
Remoção:				
DBO	%	38,4	55,5	43,7
DQO	%	71,3	80,1	73,5
Sulfato	mg L ⁻¹	1482±60.1	650±34	1241,2±22
Proteínas Totais	g dL ⁻¹	3,75±1.1	4,74±0.2	3,1±0.6

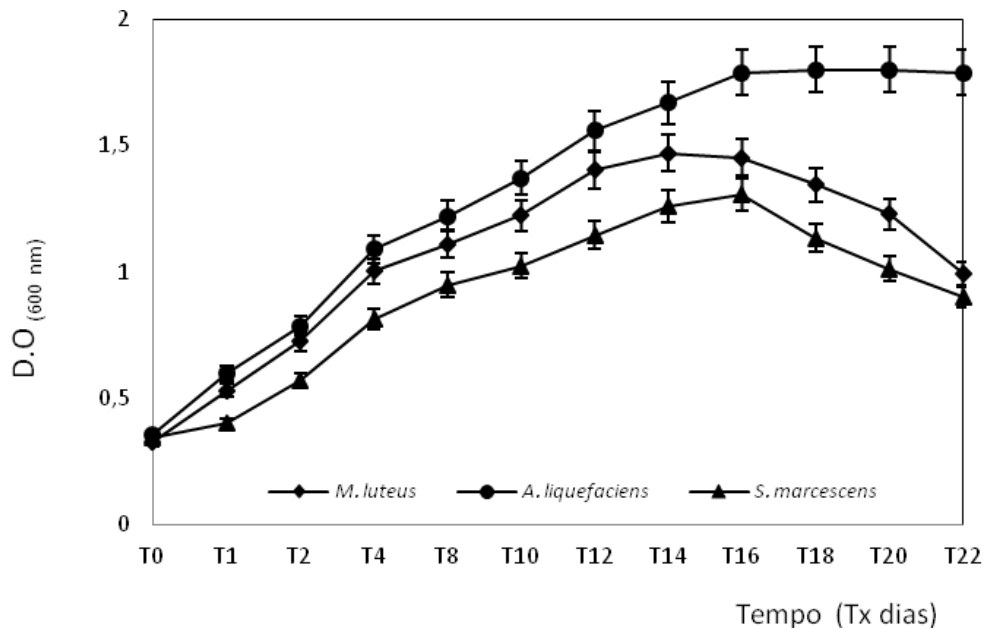


Figura 2– Curva de crescimento das linhagens bacterianas de *S. marcescens*, *M. luteus*, *A. liquefaciens*, testadas no bioprocesso utilizando efluente preparado, incubadas a 32° C por 30 dias.

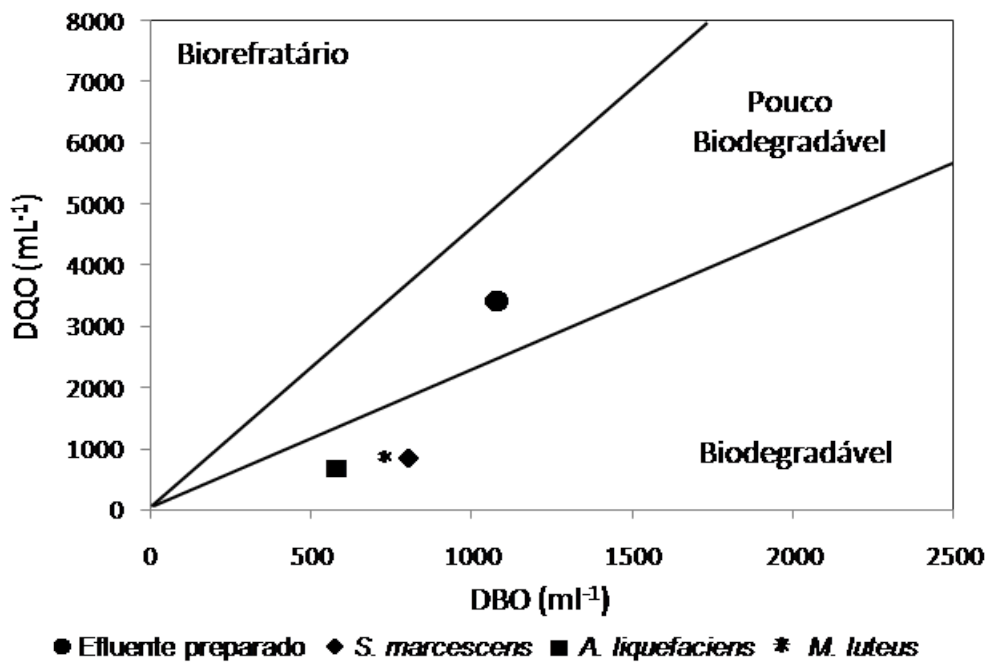


Figura 3– Distribuição dos valores médios de DQO/DBO do efluente preparado antes e após o bioprocesso, utilizando as linhagens *S. marcescens*, *M. luteus*, *A. liquefaciens*, de acordo com curva de biodegradabilidade, segundo a definição de Jardim e Canela (2004).

biodegradável. A elevada taxa de DQO do efluente, ainda antes do bioprocesso, nos permite concluir que

as substâncias contidas são tóxicas e acabam determinando morte da maioria das bactérias decompositoras

presente no sistema. As três linhagens testadas mostraram-se capazes de reduzir as taxas de

sulfato, DBO e DQO com certa intensidade. O *M. luteus* e *S. marcescens* apresentaram um comportamento semelhante, embora o *A. liquefaciens* se desatacou das demais pela sua atividade redutora.

A capacidade de remoção individual das linhagens bacterianas pode ser observada na tabela 3. Em relação à taxa de remoção, todas as três linhagens testadas no bioprocessamento, mostraram uma eficiência acima de 70% na capacidade de remoção de DQO. Destacando-se o *A. liquefaciens* como linhagem de maior atividade redutora, com mais de 80 %.

Tanto a DBO como a DQO tem demonstrado ser um parâmetro bastante eficiente no controle de sistemas de tratamentos aeróbio/anaeróbio de esgotos sanitários e de efluentes industriais. Segundo Pereira (2004) processo de redução da concentração de contaminantes por microrganismos é conhecido como autodepuração, e contempla as seguintes etapas: a) decomposição da matéria orgânica, que é quantificada por meio da DBO; b) recuperação do oxigênio dissolvido ou reaeração. O processo de autodepuração depende do potencial poluidor do despejo, concentração do oxigênio dissolvido na água, características hidrodinâmicas do corpo e da temperatura no sistema.

A concentração de proteínas pode ser um fator revelador do andamento do bioprocessamento. Nesse experimento observou-se um aumento de 2,3 vezes no nível inicial de proteínas totais, de 1,79 g dL⁻¹ para 4,1 g dL⁻¹, na média final das três linhagens bacterianas.

Se por um lado a capacidade de liberar íons de H⁺ pode servir como parâmetro para definição do estado fisiológico dos microrganismos em um bioprocessamento, por outro, a concentração de proteína é uma medida aceitável para avaliação do crescimento celular, uma vez que esta

constitui a maior parte (50-70%) do peso seco celular orgânico (HERMANN, 2003). Além de servir como parâmetro para seleção de microrganismos, também possibilita determinar as dependências das condições do ambiente em que o microrganismo desenvolve suas atividades metabólicas.

A redução do sulfato pelas espécies bacterianas testadas mostra um comportamento análogo, porém individualmente, o *A. liquefaciens* mostrou-se com maior capacidade redutora nas concentrações de sulfato. Na comparação com as demais linhagens, o *A. liquefaciens*, e ao final do processo, também apresentou um menor consumo de OD e maior taxa de biomassa, avaliado pelo teor de proteínas totais.

Embora a maioria das espécies do gênero *Acetobacter* sejam bactérias metanogênicas acetoclásticas, isto é, produzem metano a partir de ácido acético ou metanol, a espécie estudada no experimento parece estar mais relacionada ao grupo das bactérias metanogênicas hidrogênótóxicas, as quais produzem metano a partir de hidrogênio e dióxido de carbono (MUTHUKUMARASAMY *et al.* 2002). Isto explicaria a redução do sulfato, pois devida a escassa fonte energética no meio, esta espécie provavelmente obteve sua energia necessária, tanto para produção de compostos como para o seu metabolismo, a partir da oxidação dos íons ferrosos e de compostos não reduzidos de enxofre, neste caso o sulfato.

Observando o comportamento das BRS, estas podem ser consideradas acetogênicas, devido aos seus subprodutos finais, além do que, segundo Vazoller (1993) são normalmente encontradas, em ambientes anaeróbios, associadas às bactérias metanogênicas. No entanto a redução de íon sulfato a sulfeto é energeticamente preferida pela

bactéria em relação à produção de metano. Experimento demonstrando desempenho de BRS em DAM utilizando biorreatores com leite fluidizado, suplementado com etanol, mostrou uma eficiência redutora máxima de 70% de sulfato (afluente com 1,5 KgSO₄²⁻/m³.d foi reduzido para 450 mg.L⁻¹). A alcalinidade produzida na oxidação sulfetogênica do etanol foi a responsável pela neutralização da DAM de pH 2,7-4,3 para 6,8-7,6 (SAHINKAYA *et al.* 2011).

A BRS estritas, assim chamadas quando apenas exercem este comportamento no ambiente, também atuam como formadoras de substratos metanogênicos em baixas concentrações de íons sulfato e em sistemas anaeróbios, formando principalmente acetato e hidrogênio. Já em presença de elevadas concentrações de íons sulfato, estas passam a competir com as bactérias metanogênicas pelo mesmo substrato, isto é, acetato e H₂ (SPEECE, 1983). Por tanto a produção de uma grande quantidade de acetoácidos e de íon H₂ explicaria o encaminhamento do bioprocessamento para acidificação.

CONCLUSÕES

O tratamento de águas residuárias, através de bioprocessamento, além de diminuir ou neutralizar grande parte dos poluentes contidos é também uma importante alternativa para a gestão dos recursos hídricos. Permitindo, não só seu reuso, mas também a devolução de águas, cuja qualidade venha atender as normas da legislação.

Neste bioprocessamento a presença de matéria orgânica e o aumento da biomassa proporcionaram um consumo progressivo da carga orgânica, seguida do decréscimo do *Eh* e redução das demandas de oxigênio, permitindo maior solubilização dos compostos orgânicos no efluente, o

que contribui significativamente para redução do sulfato pela via bacteriana.

O destaque do bioprocesso foi para a linhagem *A. liquefaciens* que apresentou maior desempenho tanto no crescimento celular como na atividade redutora dos parâmetros avaliados. Obteve-se um índice de redução de sulfato de 66% e um aumento na biomassa, avaliado pelo teor de proteínas totais, de 2,65 vezes.

A redução da DQO/DBO, apesar de significativa (superior a 55%), ainda não atende a Resolução nº 430/2011 do CONAMA, sendo necessário um tratamento complementar, como, por exemplo, um tratamento secundário de baixa intensidade (associado ou não com aeração ou a flotação), visto que o efluente após o bioprocessamento se encontra em uma faixa de maior biodegradabilidade.

A mitigação dos impactos ambientais e dos prejuízos à saúde humana, causados pela atividade da mineração, podem ser atingidos com processos viáveis e de baixo custo, como no caso a remediação que envolve os bioprocessos. Resta à pesquisa da biorremediação o desafio de tornar o processo aplicável em escala industrial, buscando fontes alternativas de energia para os microrganismos, que por sua vez abrem novas possibilidades de pesquisa.

AGRADECIMENTOS

Ao MCT/CNPq - Ministério de Ciências e Tecnologia e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
À VALE - Companhia Vale do Rio Doce
À REDE CARVÃO - Rede De Pesquisa, Desenvolvimento Tecnológico e Inovação em Carvão Mineral
À IALU – International Association of La Salle Universities

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, S. K.. **Detecção de Bactérias Redutoras de Sulfato em Efluente e Sedimento de Mina de Urânio**. Dissertação de mestrado em Ciência e Tecnologia das Radiações, Minerais e Materiais do Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear, Belo Horizonte/MG, 2005.
- APHA. **American Public Health Association**. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21th Ed. Washington D.CAPHA-AWWA-WEF, 1134p. 2005.
- BAHRI, A. BRISSAUD, F.; Setting up water reuse guidelines for the Mediterranean, **Water Science & Technology**. Vol. 50, No. 2, pp. 39-46. 2004.
- BILLIARD, S.M., BOLS, N.C., HODSON, P.V. In vitro and in vivo comparisons of fish-specific CYP1A induction relative potency factors for selected polycyclic aromatic hydrocarbons. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Vol. 59, no 3, p 292-299, 2004
- BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **CONAMA. Resolução nº. 430, de 13 de maio de 2011**. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, 16 maio 2011. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>>. Acessado em: 21/04/2012.
- CETESB - COMPANHIA DE TECNOLOGIA EM SANEAMENTO AMBIENTAL – Governo do Estado de São Paulo. **Qualidade das águas interiores no estado de São Paulo**, 2007. São Paulo: CETESB, 2007. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/rios/publicacoes.asp>>. Acesso em: 22 de Jan. 2011.
- CHAPELLE, F.H., BRADLEY, P.M., THOMAS, M.A. MCMAHON, P.B.: Distinguishing iron-reducing from sulfate-reducing conditions. **Ground Water**, 47(2), 300-305. 2009.
- CHAVES, A. P. **Os problemas do carvão em geral e do carvão brasileiro em particular**. In: SOARES, PAULO S. M.; SANTOS, M. D. C. dos; POSSA, M. V.. Carvão Brasileiro: tecnologia e meio ambiente. Rio de Janeiro. CETEM/MCT, p. 13-24. 2008.
- CORTÉS, O.E.J. **Avaliação técnica da utilização de H2S no tratamento de efluentes líquidos ácidos contendo metais pesados**. Dissertação de mestrado. Escola Politécnica, Universidade Federal da Bahia, Salvador/BA, 2005.
- EPA - ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Disponível: <http://www.epa.gov>. Acessado: junho de 2011.
- FUNGARO, D. A; IZIDORO, J. C. Remediação de drenagem ácida de mina usando zeólitas sintetizadas a partir de cinzas leves de carvão. **Química. Nova**. vol.29, n.4, p. 735-740. 2006.
- GARCÍA-RUBIO, L. H., ALUPOAEI, C. E., OLIVARES, J. A. Quantitative Spectroscopy Analysis of prokaryotic Cells: Vegetative Cells and Spores, **Biosensors and Bioelectronics**, v. 19(8), p. 893-903, 2004.
- HERMANN, T. Industrial production of amino acids by coryneform bacteria, **Journal of Biotechnology**, vol. 104, p.155-172. 2003.
- JARDIM, W. F. CANELA, M. C.; **Caderno Temático: Fundamentos da Oxidação Química no Tratamento de efluentes e remediação de solos**. v.1; UNICAMP; Campinas, 2004.
- KEMP, P.F.; ALLER, J.Y. Bacterial diversity in aquatic and other environments what 16SrDNA libraries can tell us. **FEMS Microbiology Ecology**, v.47, p.161-177, 2004.
- KIJANAPANICH, P. ANNACHHATRE, A. P., LENS, P. N. L. Biological sulfate reduction for treatment of gypsum contaminated soils, sediments and solid wastes. **Critical Reviews in**

- Environmental Science and Technology**, n. just-accepted, 2013.
- LANGE, L. C.; ALVES, J. F.; AMARAL, M. C. S.; MELO JUNIOR, W. R.; Tratamento de Lixiviado de Aterro Sanitário por Processo Oxidativo Avançado empregando reagente de Fenton. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v 11, n. 2, p 175-183, 2006.
- LAUS, R et al. Microesferas de quitosana reticuladas com tripolifosfato utilizadas para remoção da acidez, ferro(III) e manganês(II) de águas contaminadas pela mineração de carvão. **Quím. Nova**. vol.29, n.1, pp. 34-39. 2006.
- MORAIS, J. L.; SIRTORI, C.; PERALTA-ZAMORA, P. G.. Tratamento de chorume de aterro sanitário por fotocatalise heterogênea integrada a processo biológico convencional. **Quím. Nova**, vol.29, n.1, pp. 20-23. 2006.
- MUTHUKUMARASAMY, R., REVATHI, G., SESHADRI, S., LAKSHMINARASIMHAN, C. Gluconacetobacter liquefaciens (syn. Acetobacter liquefaciens), a promising diazotrophic endophyte in tropics, **Current Science**, v. 83, n. 2, p. 137-145. 2002.
- PEREIRA, R. S. Identificação das fontes de poluição em sistemas hídricos. **Revista Eletrônica de Recursos Hídricos/IPH-UFRGS**. v. 1, n 1. p.20-36. 2004.
- POSTGATE, J.R. **The sulphate-reducing bacteria**. 2nd edition. Cambridge: Cambridge University Press. 1984. 145 p.
- RODRIGUES, F. S. F. **Aplicação da ozonização e do reativo de Fenton como pré-tratamento de chorume com os objetivos de redução da toxicidade e do impacto no processo biológico**. 2004, 79f. Dissertação de mestrado – UFRJ, Rio de Janeiro. 2004.
- RUBIO, J. SILVA, R. SILVEIRA, A. **Técnicas para tratamento e alternativas de reuso de águas ácidas de minas de carvão**. VI Simpósio Internacional de Qualidade Ambiental - ABES-RS e PUCRS/FENG. Porto Alegre, 2008.
- SAHINKAYA, E, GUNES, F. M, UCAR, D, KAKSONEN, A. H. Sulfidogenic fluidized bed treatment of real acid mine drainage water. **Bioresour Technol.**, v. 102, p.683-689. 2011.
- SPEECE, R. E.. Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. **Environ. Sci. Technol.**, v. 17, p. 416A-427A. 1983.
- UBALDO, M. O., SOUZA, V. P. **Controle e mitigação dos impactos da drenagem ácida em operações de mineração**. In: SOARES, P. S. M.; SANTOS, M. D. C.; POSSA, M. V.. Carvão Brasileiro: tecnologia e meio ambiente. Rio de Janeiro, CETEM/MCT, 2008. p. 129-151.
- VAZOLLER, R. F.. **Características e interações microbianas nos processos de tratamento biológico aeróbio e anaeróbio**. In: II Curso de Tratamento Biológico de Resíduos. IPT/SP. S.P. Brasil. 1993.

Recebido em: maio/2012

Aprovado em: nov/2013