

## II-419 - AVALIAÇÃO DO GLICEROL COMO FONTE DE CARBONO PARA A REDUÇÃO BIOLÓGICA DE SULFATO EM SISTEMA BATELADA

**Bruno Rocha Rodrigues<sup>(1)</sup>**

Graduando em Engenharia Ambiental na Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

**Soryane de Paula Menezes**

Graduando em Engenharia Ambiental na Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

**Daniela Arantes de Almeida**

Graduando em Engenharia Ambiental na Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

**Sueli Moura Bertolino**

Prof<sup>a</sup> A. Dr.<sup>a</sup> na Universidade Federal de Uberlândia(UFU).

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Rua Luiza de Jesus, Número 18 - Cazeca - Uberlândia - MG - CEP: 38408-002 - Brasil - Tel: +55 (34) 9991-2663 - e-mail: [brunor\\_8@hotmail.com](mailto:brunor_8@hotmail.com)

### RESUMO

Com a crescente preocupação em diminuir os impactos causados pelo lançamento de efluentes industriais nos corpos de água, torna-se necessária a busca por diferentes tecnologias de tratamento economicamente viáveis. No âmbito deste projeto de pesquisa, foram realizados ensaios em batelada utilizando o lodo de um UASB provindo da estação de tratamento da cidade de Uberlândia, para verificar a eficiência de remoção de sulfato por bactérias sulfetogênicas (BRS). Nos ensaios em batelada, os meios foram preparados com glicerol puro (controle), glicerol bruto derivado de óleo residual e outro derivado de gordura suína, como substrato para o crescimento dos micro-organismos. As remoções médias de sulfato encontradas para as BRS foram de 67,48%, 21,64% e 35,28%, para os respectivos três meios. Os resultados encontrados apresentaram boas remoções em alguns casos, porém ainda existem outras variáveis a serem estudadas, como a razão DQO/sulfato.

**PALAVRAS-CHAVE:** Redução de sulfato, reator em batelada, BRS, bactérias metanogênicas.

### INTRODUÇÃO

A presença de elevados teores de íons sulfato em efluentes líquidos é devida ao uso do ácido sulfúrico, um reagente barato e estável, em processos industriais. Além da indústria hidrometalúrgica, efluentes contendo altas concentrações de sulfato podem ser gerados em diversos processos como, as indústrias de produção de cobre e de níquel; as linhas de galvanização de aços; a produção de ácido fosfórico; a remoção ácida de impurezas; entre outros. Como resultado, o nível de sulfato em águas residuárias, destas e de outras indústrias é elevado, podendo chegar a 10g/L. A geração de drenagem ácida de mina (DAM) decorrente da oxidação de sulfetos metálicos, como pirita e pirrotita, é também uma importante fonte de contaminação. Os maiores impactos causados pela presença de elevadas concentrações de sulfato, estão associados aos possíveis efeitos tóxicos causados pelo sulfeto que se forma no processo anaeróbio da redução de sulfato, podendo comprometer o processo natural de autodepuração do corpo de água.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (WHO, 2011), ainda não se têm dados que permitam afirmar qual o nível de sulfato capaz de causar efeitos adversos aos seres humanos. Pessoas adultas que consomem água potável contendo sulfato em concentrações superiores a 600 mg/L podem apresentar quadro de diarreia, embora também seja reportado que, com o tempo, os humanos podem se adaptar a altas concentrações do íon (WHO, 2011). Em função dos possíveis problemas causados pela ingestão de altas concentrações de sulfato, o valor limítrofe para águas de abastecimento no Brasil, estabelecido pela Portaria 2.914/2011 do Ministério da Saúde, é 250 mg/L. A Resolução 357/2005 do CONAMA (2005) e a Deliberação Normativa COPAM/CERH nº 01/11 (2011) do estado de Minas Gerais limita a concentração de sulfato para águas doces das Classes 1 e 2 também em 250 mg/L. Esse limite é definido para o corpo receptor e não para o efluente em si. No Estado de São Paulo, a Lei nº 997 de 31 de maio de 1976, no Artigo 19-A, estabelece a concentração máxima de 1,0gS-SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>/L em efluentes líquidos lançados direta ou indiretamente nos corpos receptores, impondo obrigatoriedade de tratamento às fontes emissoras cujas concentrações de sulfato ultrapassem este valor

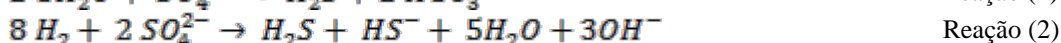
determinado. A recomendação dos órgãos fiscalizadores de outros países é que a concentração de sulfato esteja entre 250 a 500mg/L em águas de abastecimento e/ou efluentes (INAP, 2003; WHO, 2011).

A utilização e o aprimoramento de processos biotecnológicos no tratamento de efluentes industriais têm intensificado o interesse de empresários e pesquisadores relacionados com atividades de mineração e metalurgia. Os principais contaminantes encontrados nestes efluentes são metais pesados e ânions como sulfato e cloreto. Tratamentos biológicos que utilizam bactérias redutoras de sulfato (BRS) vêm se destacando por ser uma alternativa eficaz e economicamente viável para a remoção de sulfato, precipitação de metais, entre outros.

Os tratamentos biológicos são baseados em processos naturais de autodepuração (RIZZO e LEITE, 2004). Dentre os microrganismos presentes nesses processos, as bactérias se destacam por sua ampla diversidade, tolerando variadas condições ambientais, tais como temperatura, concentração de substrato e pH. Por isso, o interesse em utilizar microrganismos em processos de tratamento de águas residuárias de origem industrial e residencial (CHERNICARO, 2007). No caso das bactérias redutoras de sulfato, as características que merecem ser destacadas são: (a) o fato de crescerem em ampla faixa de pH, entre 3,0 e 9,0; (b) serem na sua maioria mesófilas, ou seja, a temperatura ideal de crescimento é de 20°C a 40°C; (c) utilizarem substratos orgânicos simples como fontes de carbono (por exemplo o acetato, o etanol, o propionato e o lactato); e (d) apesar de serem anaeróbias, apresentarem tolerância ao oxigênio (LENS, VALLEROL *et al.*, 2002).

A redução biológica de sulfato consiste na sua utilização como aceptor de elétrons, obtidos na oxidação de matéria orgânica, havendo produção de sulfeto de hidrogênio. Para que um processo de tratamento biológico de efluentes ricos em sulfato seja bem sucedido é importante a escolha correta da fonte de carbono empregada como doadora de elétrons para o processo. A fonte de carbono ideal seria aquela que propiciasse, simultaneamente, boas taxas de crescimento bacteriano e altas taxas de redução de sulfato. Substratos orgânicos complexos como resíduos de indústrias de polpa e papel, esgotos domésticos e excrementos de animais têm sido utilizados como fontes alternativas de carbono e energia para BRS. Porém, o uso de compostos orgânicos mais simples com cadeias carbônicas menores e baixo peso molecular, como etanol, acetato, lactato, propionato e butirato tem apresentado melhor eficácia nos processos biológicos de remoção de sulfato (LIAMLEAM e ANNACHHATRE, 2007).

Consórcios bacterianos utilizados no tratamento anaeróbio de efluentes são constituídos basicamente por bactérias acidogênicas, acetogênicas, redutoras de sulfato e as arqueas metanogênicas. Estes grupos bacterianos consomem o substrato orgânico, promovendo uma relação sintrófica ou de competição pelo substrato (CHERNICARO, 2007). O processo realizado pelas BRS pode ser representado pelas reações químicas 1 a 3. Na reação 1 temos a utilização de um substrato orgânico como doador de elétrons para o íon sulfato que é então reduzido a forma de sulfeto. Se no ambiente houver disponível hidrogênio (H<sub>2</sub>), como representado pela reação 2, este será utilizado como doador de elétrons. Analogamente, temos a redução de sulfato a sulfeto. O sulfeto produzido a partir da redução do sulfato reage com os metais (quando presentes no meio) formando um precipitado insolúvel (Reação 3).



É possível perceber através das três reações acima que com o uso das BRS podemos remediar os principais problemas inerentes dos efluentes advindos da DAM e efluentes industriais contendo a alta concentração de sulfato, a presença de metais pesados e elevada acidez.

Cao et al. (2008) realizaram um estudo para o tratamento de solução de biolixiviação, utilizando reatores em batelada contendo BRS, para avaliar a eficiência na redução de sulfato e remoção de metais (Ni, Cu e Mg). Os autores investigaram o efeito de diferentes razões DQO/ SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (0, 5, 1, 2, 3, 9) na produção biogênica de sulfeto, aumentando a concentração de DQO e mantendo constante a concentração de sulfato (1925mg/L). Os resultados apresentaram eficiências de redução de sulfato de 72% e 83%, para as razões DQO/sulfato 9 e 3, respectivamente, indicando que a alta concentração de DQO tem um efeito positivo na redução de sulfato, o que pode ser explicado pela maior disponibilidade de fonte de carbono orgânico para o anabolismo de novas

células de BRS. Por outro lado, o trabalho mostrou que uma menor ou maior razão de DQO/  $\text{SO}_4^{2-}$  resulta em baixa eficiência da remoção de sulfato no reator. Alguns autores têm sugerido que altas taxas orgânicas e em condições limitadas de sulfato, as metanogênicas dominam na competição com as BRS pelo substrato (VALLERO, TREVIÑO *et al.*, 2003).

A capacidade que as BRS apresentam de oxidar a matéria orgânica de forma incompleta (acetogênicas) ou completa (acetoclásticas) possibilitou uma segunda separação dos seus gêneros em dois subgrupos. Segundo Barton (1995), os gêneros que realizam oxidação incompleta (produção de acetato), ou primeiro grupo, são: *Desulfovibrio*, *Desulfomicrobium*, *Desulfobotulus*, *Desulfofustis*, *Desulfotomaculum*, *Desulfomonile*, *Desulfobacula*, *Archaeoglobus*, *Desulfobulbus*, *Desulforhopalus*, *Thermodesulfobacterium*. O segundo grupo, ou que realizam oxidação completa a  $\text{CO}_2$ , são: *Desulfobacter*, *Desulfobacterium*, *Desulfococcus*, *Desulfonema*, *Desulfosarcina*, *Desulfoarculus*, *Desulfacinum*, *Desulforhabdus*, *Thermodesulforhabdus*.

A diversidade de espécies de BRS, suas peculiaridades fisiológicas e estruturais favorecem o tratamento biológico de efluentes ricos em sulfato. Os grupos bacterianos consomem substrato orgânico, promovendo uma relação sintrófica ou de competição pelo substrato. A concentração (expressa em termos da demanda química de oxigênio – DQO) e a qualidade do substrato orgânico e a concentração de sulfato no efluente podem ser fatores importantes para uma eficaz remoção do sulfato. Portanto, para assegurar o sucesso da aplicação dos processos anaeróbios na redução do sulfato o desenvolvimento de estudos que possibilitem o uso de substratos mais baratos se faz necessário. Neste projeto serão avaliadas fontes de carbono e elétrons alternativas como o glicerol bruto, proveniente da produção do biodiesel.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Neste projeto foi avaliado como fonte de carbono alternativa o glicerol bruto, proveniente da produção do biodiesel a partir de óleo residual e gordura animal. Experimentalmente o glicerol bruto será analisado para o desenvolvimento de estudos que possibilitem o uso de substratos mais baratos. A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Qualidade Ambiental (LAQUA) do Instituto de Ciências Agrárias da UFU.

### Preparo do Inóculo

A coleta do lodo de inóculo foi realizada na Estação de Tratamento de Esgoto - ETE Uberabinha, que é o principal sistema de tratamento da cidade, tratando 95% do esgoto de Uberlândia. O lodo foi coletado na unidade secundária do tratamento, Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente (RAFA).



Figura 1 - Coleta de lodo de inóculo da ETE Uberabinha.

Após a coleta, o lodo foi transferido para um reator estático, com o volume útil de 5 (cinco) litros. Na fase de adaptação o reator foi alimentado três vezes por semana com meio específico para o crescimento de bactérias redutoras de sulfato (Tabela 1).

**Tabela 1** - Composição do meio de cultura Postgate C (g/L) (POSTGATE, 1963) para adaptação do lodo a elevadas concentrações de sulfato.

Componente	Composição (g/L)	Meio	Volume Final (mL)
Glicerol	**		
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,5		
NH <sub>4</sub> Cl	1,0		
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2,96		
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,06	I	1920
NaHCO <sub>3</sub>	1,0		
Extrato de levedura	0,25		
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> total (teórico)	2,0		
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,5	II	40
Ácido Ascórbico	0,1	III	40
Na-Tioglicolato	0,1		

\*\* O volume de glicerol puro adicionado no Ensaio I foi calculado a partir de uma concentração de DQO de 4000mg/L. Para o cálculo da massa de glicerol bruto: a partir da DQO de 1g do glicerol bruto encontrou-se a massa equivalente do glicerol bruto a 4000 mgDQO/L.

### Ensaio em Batelada – Redução de Sulfato

Após adaptação, uma alíquota (24 mL) do lodo foi adicionada nos frascos âmbar de 500 mL (Figura 1), correspondendo a 10% v/v de inóculo juntamente com 456 mL de meio Postgate C (Tabela 1). Foram realizados dois ensaios: i) Ensaio 1 – glicerol puro, ii) Ensaio 2 – glicerol bruto de óleo residual e iii) Ensaio 3 – glicerol bruto de gordura suína, todos os ensaios foram realizados em triplicata e um controle (Figura 1). Em cada frasco, a concentração do sulfato foi mantida constante (2,0 g/L) e a concentração dos substratos foi calculada em termos de DQO, a fim de se obter para cada ensaio a razão DQO/sulfato igual a 2,0.



**Figura 2** - Frascos âmbar para ensaios em batelada.

Cada ensaio de redução de sulfato teve a duração de 168 horas (7 dias). Alíquotas de 4 mL foram retiradas diariamente para análise dos seguintes parâmetros: pH, temperatura, sulfato e DQO.





Figura 2 - Frascos âmbar para ensaios em batelada.

### Metodologias das análises químicas

Os parâmetros pH e a temperatura foram determinados através do equipamento multiparâmetro do modelo HQ 40 multi da marca Hach. Para determinação do sulfato era necessário um preparo das amostras para a retirada do sulfeto. Transferiu-se a amostra para um tubo Falcon, contendo 3 mL de água e alguns cristais na ponta da espátula de  $\text{CuCl}_2$ . Adicionou-se 6 mL de água destilada com a pipeta automática. Depois de retirado o sulfeto para evitar a reoxidação, o teor de sulfato foi determinado pelo método turbimétrico pela formação de sulfato de bário.

Para determinação da DQO o primeiro passo foi o preparo da amostra, adicionando 4 mL da amostra a um tubo Falcon e acidificou com uma gota de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado. Realizou-se a análise seguindo a metodologia do Standard Methods (2012).

## RESULTADOS

### Monitoramento do reator adaptação

A Figura 4 apresenta os resultados do reator de adaptação, onde observa-se favoráveis ao crescimento das BRS, com valores de pH compreendidos entre 6,84 e 7,77 (valor médio 7,16), portanto, dentro da melhor faixa de crescimento das BRS (Barton, 1996). A temperatura ficou entre 22,0°C e 30,2°C, com a média de 27,3°C. Com base nestes resultados, este reator forneceu o inóculo para o ensaio em batelada.

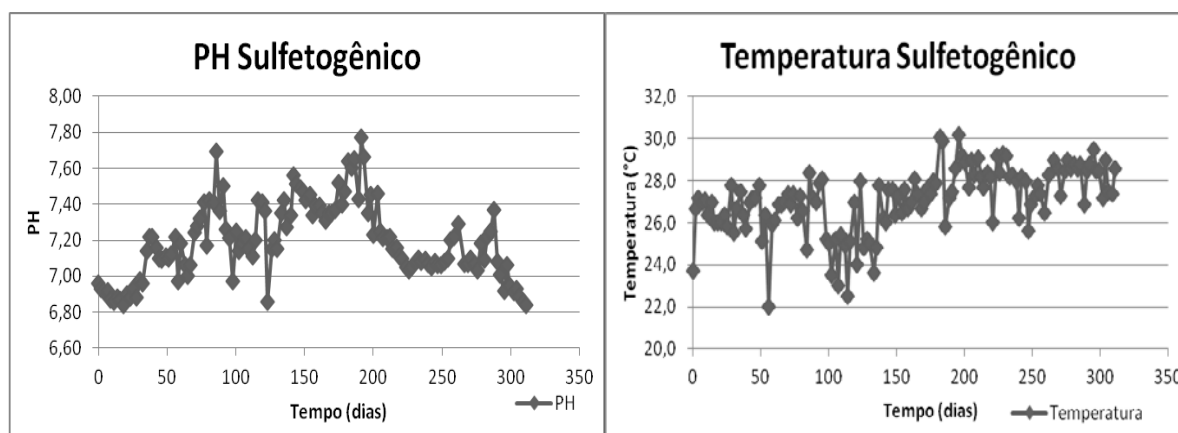
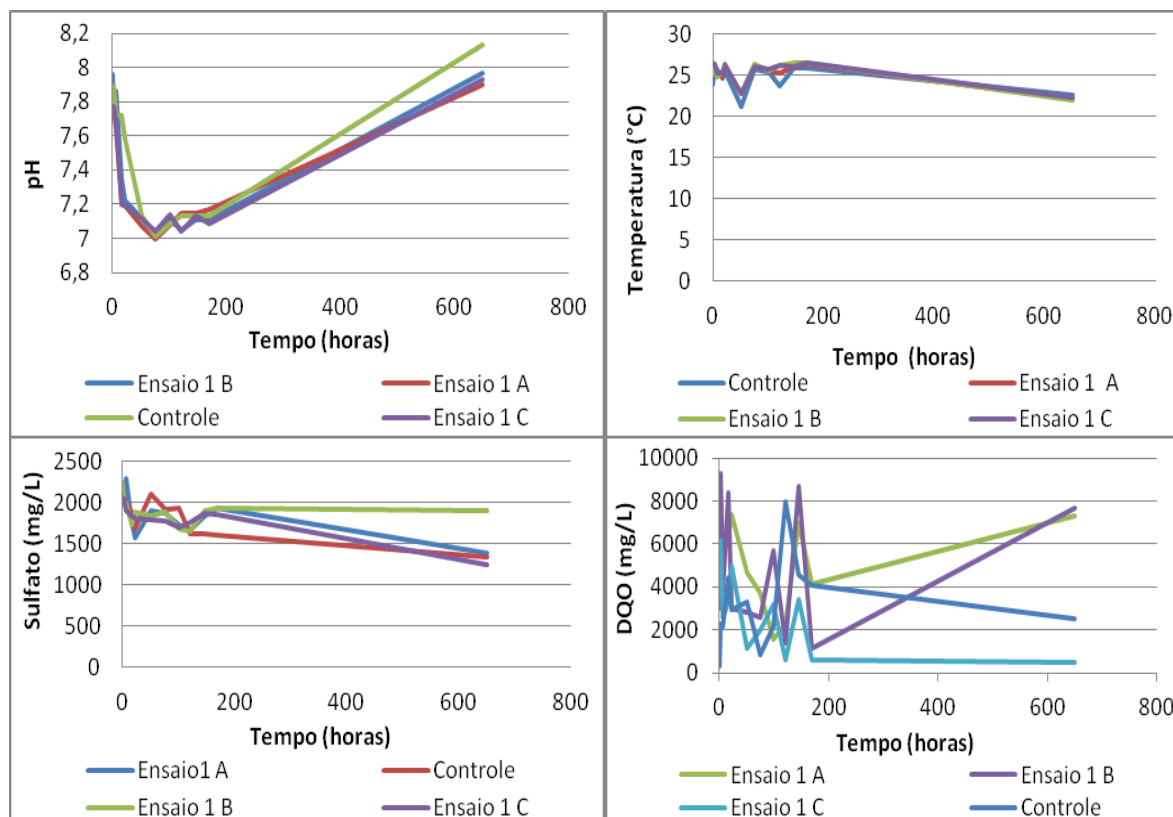


Figura 4 - Valores de pH e temperatura durante a fase de adaptação do inóculo de BRS (reator de adaptação).

### Ensaio 1 - Redução de sulfato com Glicerol Puro

Para avaliar a capacidade das BRS em utilizar glicerol bruto como fonte de elétrons e carbono durante a redução do sulfato, primeiramente foi realizado um Ensaio em batelada (ENSAIO 1) com glicerol puro, por ser isento de impurezas. Na Figura 5 estão apresentados os resultados de pH, temperatura, sulfato e DQO durante o monitoramento do Ensaio 1.



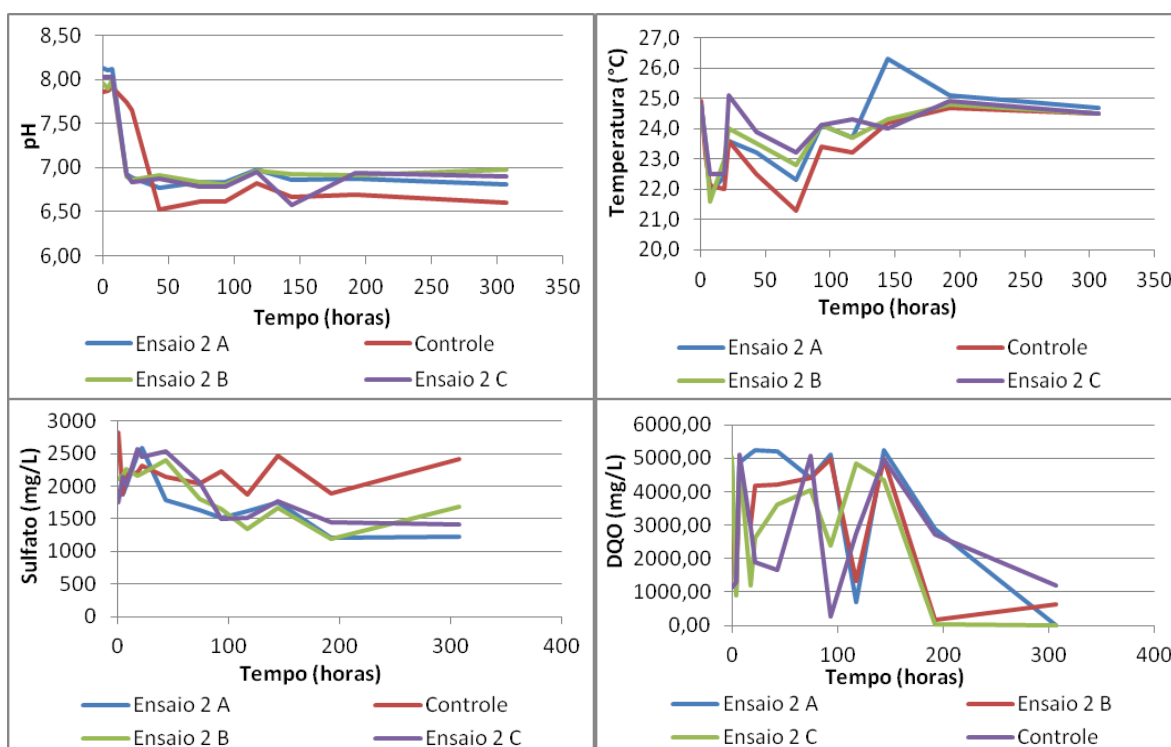
**Figura 5 - Evolução temporal do pH, temperatura, concentração de sulfato e DQO durante o monitoramento do ENSAIO 1, para avaliar a atividade das BRS.**

De acordo com o gráfico de pH é possível notar a queda do mesmo e, seu posterior aumento. Este fato ocorre devido a atividade preliminar das bactérias fermentativas levando à formação de ácidos graxos (queda no pH) que posteriormente serão utilizados pelas BRS para a redução de sulfato, com concomitante formação de alcalinidade (aumento no valor do pH).

A DQO média inicial no experimento foi de 3340 mgDQO/L, enquanto que a concentração média de sulfato inicial foi de 2155,92 mg/L, sendo que ao término do ensaio as concentrações foram de 4506,34 mgDQO/L e 1465,62 mg/L, respectivamente. No caso da DQO, em dois ensaios, Ensaios 1 A e 1 B, foram detectados aumento da sua concentração, o que pode ter ocorrido devido a DQO proveniente da biomassa, nas amostras coletadas. Nos ensaios controle e 1 C a concentração média da DQO de início foi de 3472,5 mgDQO/L e ao término do monitoramento foi encontrada a DQO final média de 1517,69 mgDQO/L, representando remoção de 56,29% da carga inicial. Já a concentração de sulfato foi reduzida, representando remoção total de 67,48%.

### Ensaio 2 - Redução de sulfato com Glicerol bruto de óleo residual

Neste ensaio, avaliou-se a capacidade das BRS utilizarem o glicerol bruto derivado de óleo residual como fonte de elétrons e carbono. O estudo utilizando essas fontes alternativas se faz necessário para diminuir os impactos ambientais, além da possibilidade do reaproveitamento destes resíduos gerados, minimizando possíveis impactos ambientais e encontrando um destino final para os mesmos. Na Figura 6 estão apresentados os resultados de pH, temperatura, sulfato e DQO durante o monitoramento do Ensaio 2.

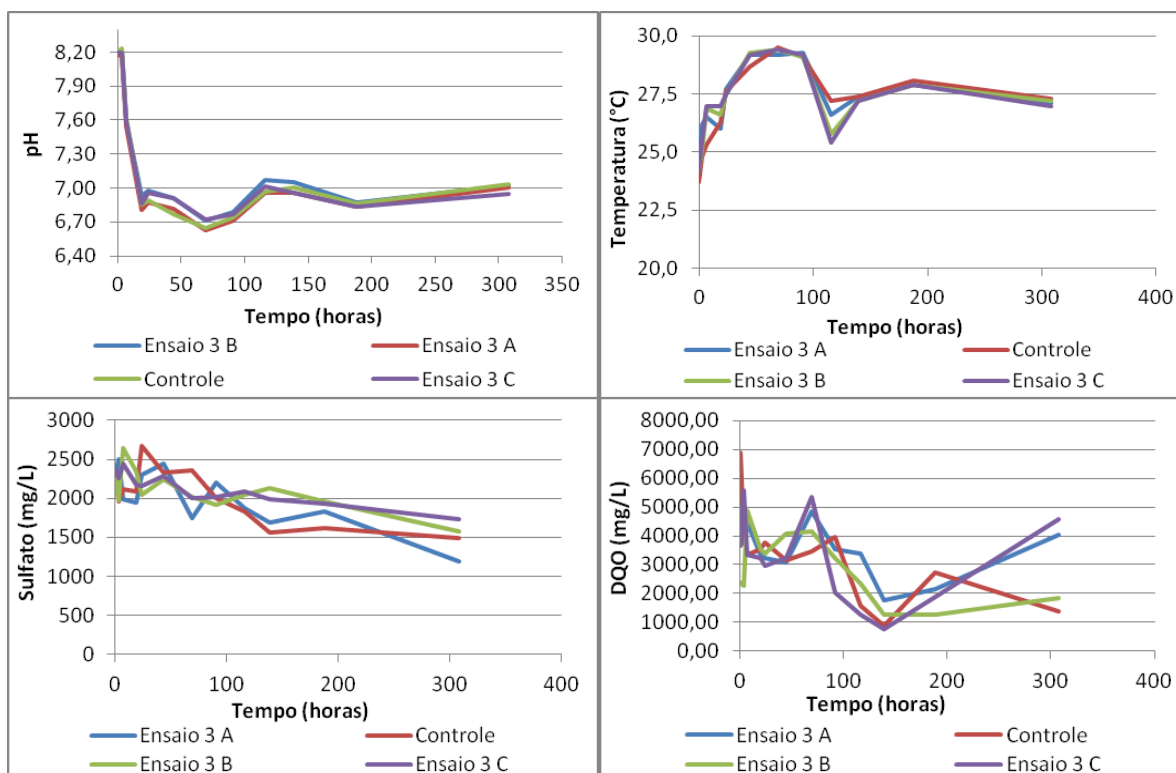


**Figura 6 - Evolução temporal do pH, temperatura, concentração de sulfato e DQO, durante o ENSAIO 2, para avaliar a atividade das BRS.**

De acordo com o gráfico de pH é possível notar a queda do mesmo nas primeiras horas e segue praticamente constante até seu término. Observa-se ainda que a DQO média inicial encontrada foi de 3587,91 mgDQO/L e a de sulfato foi de 2154,28 mg/L, sendo que ao seu término apresentaram concentrações de 466,94 mgDQO/L e 1688,15 mg/L, respectivamente. A DQO deste ensaio apresentou remoção de 86,99% e a eficiência da remoção de sulfato foi de 21,64%.

### **Ensaio 3 - Redução de sulfato com Glicerol Bruto de gordura suína**

Neste ensaio, avaliou-se a capacidade das BRS utilizarem como fonte de elétrons e carbono o glicerol bruto derivado da produção de biodiesel a partir de gordura suína. A tentativa da utilização do glicerol bruto derivado de gordura suína também se encontra na mesma situação do glicerol derivado de óleo residual, por ser necessária a melhor destinação final para estes resíduos. Na Figura 7 estão apresentados os resultados de pH, temperatura, sulfato e DQO durante o monitoramento do Ensaio 3.



**Figura 7- Evolução temporal do pH, temperatura, concentração de sulfato e DQO, durante o monitoramento do ENSAIO 3, para avaliar a atividade das BRS.**

Observa-se que o pH é reduzido rapidamente a um valor de 6,6 nas primeiras horas, devido à atividade de bactérias fermentativas (BERTOLINO et al., 2012). Após 75 horas de monitoramento observa-se um aumento gradativo no pH para valores próximos a 7,0 até o final do ensaio.

Por fim, a DQO média inicial no experimento foi de 4368,75 mgDQO/L, enquanto que a concentração média de sulfato inicial foi de 2311,49 mg/L, sendo que ao término do ensaio as concentrações foram de 2962,5 mgDQO/L e 1495,86 mg/L, respectivamente. A remoção média da DQO foi de 32,19% e a remoção de sulfato foi de 35,28%.

A temperatura em todos os ensaios foi mantida entre 25 a 30°, conforme observado nas Figuras 5, 6 e 7, a fim de garantir as condições ideais de crescimento das bactérias redutoras de sulfato.

## CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, pode-se afirmar que para as Bactérias Sulfetogênicas, ou Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS), apresentaram boa remoção de 56,29% para a DQO e de 67,48% para o sulfato, com a utilização de glicerol puro. Com o glicerol bruto derivado de óleo residual, a remoção foi de 86,99% de DQO e de 21,64% de sulfato, sendo que a de DQO apresentou o resultado mais expressivo. Para o glicerol bruto derivado de gordura suína, as remoções foram de 32,19% para DQO e 35,28% de sulfato. Neste experimento, as remoções não foram tão satisfatórias quanto aos outros dois ensaios. A remoção mais satisfatória foi a de glicerol bruto derivado de óleo residual.

Porém, ainda há muitas outras fontes a serem descobertas para este tipo de experimento, com o intuito de reaproveitar rejeitos de indústrias como fontes alternativas para tratamentos de efluentes. Portanto, deverão ser realizados outros ensaios com outras fontes ou até mesmo alterando a relação de concentração entre glicerol e outros nutrientes fornecidos às bactérias.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA. Standard Methods for the examination of water and wastewater. **American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation**, 22 ed. Washington. 2012.
2. BARTON, L. L. **Sulfate-reducing bacteria**. New York: Plenum Press, 1995. 336
3. BERTOLINO, S. M. et al. Implications of volatile fatty acid profile on the metabolic pathway during continuous sulfate reduction. **Journal of Environmental Management**, v. 103, n. 0, p. 15–23, 30 jul. 2012.
4. BRASIL. **Portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde**. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.
5. CAO, J., ZHANG, G., MAO, Z., FANG, Z. and YANG, C. (2008). Presipitation of valuable metal from bioleaching solution by biogenic sulfides. **Minerals Engineering**, 2008, 135(1-3), 40-46.
6. CHERNICARO, C. A. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: reatores anaeróbios. Belo Horizonte: DESA-UFGM, 2007. 380 p.
7. CONAMA. **RESOLUÇÃO Nº 357, DE 17 DE MARÇO 2005**. M. D. M. Ambiente: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>> 2005.
8. COPAM/CERH. **Deliberação Normativa Nº 1, de 05 de maio de 2008**. C. P. Ambiental: Diário do Executivo-"Minas Gerais" 2008.
9. INAP. Treatment of sulphate in mine effluents. International network for acid prevention, p.129. 2003
10. LENS, P. et al. Perspectives of sulfate reducing bioreactors in environmental biotechnology. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 1, n. 4, p. 311-325, 2002.
11. LIAMLEAM, W. and ANNACHHATRE, A. P. (2007). Electron donors for biological sulfate reduction. **Biotechnology Advances**, 2007, 25(5), 452-463.
12. Postgate, J.R., 1963. Versatile Medium for the Enumeration of Sulfate-Reducing Bacteria. **Appl. Microbiology**, 11: 265-267.
13. RIZZO, A. C. L. and LEITE, S. G. F. (2004). **Produção de sulfeto em reator tipo UASB e seu potencial de aplicação na remoção de metais pesados de efluentes**. Rio de Janeiro, Centro de Tecnologia Mineral - CETEM: 108.
14. VALLERO, M.V.G., TREVINO, R.H.M., PAULO, P.L., LETTINGA, G. and LENS, P.N.L., 2003. Effect of sulfate on methanol degradation in thermophilic (55 °C) methanogenic UASB reactors. **Enzyme and Microbial Technology**, 32(6): 676-687.
15. WHO. **Guidelines for drinking-water quality**. Genebra. 1: 668 p. 2011.