

II-459 - EFEITO DA RAZÃO DQO/SULFATO NA BIORREDUÇÃO DO SULFATO USANDO UMA CULTURA MISTA DE MICRO-ORGANISMOS

Sueli Moura Bertolino⁽¹⁾

Prof^ª A. Dr.^a na Universidade Federal de Uberlândia(UFU).

Nayara Carolina Quites

Graduanda em Química pela Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP).

Versiane Albis Leão

Prof^ª Dr. na Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP).

Endereço⁽¹⁾: Avenida Amazonas, Bloco 4K, sala 345 - Umuarama- Uberlândia - MG - CEP: 38405-302-Brasil - Tel: (31) 9221-0180 - e-mail: suelibertolino@iciag.ufu.br

RESUMO

A presença de elevados teores de íons sulfato em efluentes líquidos é devida ao uso do ácido sulfúrico nas indústrias de diversos ramos (galvanoplastia, papel e celulose, metalúrgica, etc.), por ser um reagente barato e estável. Como resultado, o nível de sulfato em águas residuárias destas e de outras indústrias é elevado, podendo chegar a 8g/L. A Resolução 357/2005 do CONAMA limita a concentração de sulfato nas águas doces, Classe 1 e 2, em 250 mg/L. O tratamento biológico de efluentes industriais contendo metais e elevadas concentrações de sulfato, surge como uma alternativa viável, principalmente por diminuir custos operacionais e a produção de resíduos (lodo). Neste estudo foi utilizada uma cultura mista de micro-organismos proveniente de um reator UASB sulfetogênico, escala de laboratório. Foram avaliadas diferentes razões DQO/sulfato (0.27, 0.47, 0.94, 1.60, 2.00, 2.60) mantendo-se constante a concentração de sulfato (2.000mg/L) e utilizando como fonte de carbono e elétrons o lactato. Os resultados obtidos nos mostraram que a concentração de substrato influencia na rota de metabolismo do sulfato. Uma competição entre as bactérias redutoras de sulfato (BRS) e as bactérias fermentativas (BF) foi observada, onde para uma razão DQO/Sulfato de 1,6 as BRS foram favorecidas, enquanto para valores acima deste houve maior atividade de BF, o que ficou evidenciado pelo acúmulo de propionato no sistema.

PALAVRAS-CHAVE: Bactérias fermentativas, propionato, redução de sulfato.

INTRODUÇÃO

A geração da drenagem ácida de mina (DAM) pode ser considerada como um dos impactos responsáveis pela regulação de efluentes com altas concentrações de sulfato, o que levou à crescente busca de tecnologias para o seu tratamento. A DAM é formada quando minerais sulfetados presentes em resíduos da mineração (rejeito ou estéril) são oxidados em presença de água, liberando uma solução ácida. Como consequência, no meio hídrico, ocorre o aumento da acidez e da concentração de metais tóxicos, bem como da concentração de sulfato (AKCIL e KOLDAS, 2006). O sulfato está também presente em efluentes de outras indústrias tais como, a de papel, curtumes, a de alimentos, a de explosivos, a de tensoativos, a de xenobióticos e aquímica/metalúrgica. Nestes efluentes industriais, a concentração de sulfato pode chegar a 8g/L (LENS *et al.*, 1995; WHO, 2011).

A presença do íon sulfato em efluentes industriais está associada aos possíveis efeitos tóxicos causados pelo íon sulfeto que se forma no processo anaeróbio da redução de sulfato. Este último pode comprometer a qualidade dos corpos d'água devido ao aumento da demanda química de oxigênio (LENS *et al.*, 1998). Além disso, o reuso de tais efluentes pelas indústrias é, normalmente, um processo inviável, pois a presença de sulfeto promove a corrosão de tubulações, estruturas e equipamentos, tornando-se, portanto, necessário o desenvolvimento de técnicas eficientes e de baixo custo que possam ser utilizadas no tratamento de efluentes com tais características (INAP, 2003; 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 518/2004 do Ministério da Saúde, é 250 mg/L. A Resolução 358/2005 do CONAMA (2005) e a Deliberação Normativa COPAM n° 010/86(1986) 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 $1,0\text{gS-SO}_4^{2-}/\text{L}$ 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 precipitação usando agentes químicos como a cal (Ca(OH)_2) é a mais utilizada, porém apresenta como principais desvantagens o gasto com reagente químicos e a geração de lodo rico em metais pesados, o que acarreta em mais custos, uma vez que este lodo deve ser disposto em aterros especiais para resíduos industriais. Além disso, a eficiência dos processos de tratamento por precipitação, não alcança valores de remoção capazes de enquadrar os efluentes aos padrões de lançamento (Oliveira, 2010). Alternativamente, os processos passivos de tratamento, baseados em procedimentos biotecnológicos, tem se mostrado uma alternativa viável para o polimento de efluentes provenientes do tratamento por precipitação, uma vez que baixa concentração de sulfato residual seria alcançada (Sheoran, 2010).

As BRS são procariotos anaeróbios que durante o processo de respiração oxidam um substrato orgânico enquanto o íon sulfato age como aceptor final de elétrons. Os principais fatores que influenciam a atividade e o crescimento das BRS são (Sheoran, 2010): pH, Eh, temperatura, meio suporte, tempo de detenção hidráulica (TDH), tipo de reator, concentração de sulfeto, concentração de sulfato e do substrato. A concentração de sulfato e substrato medida em termos da razão DQO/Sulfato é determinante na eficiência do processo de biorredução, uma vez que influenciará diretamente a atividade e o crescimento das BRS, ou seja, na cinética do processo. Isto se justifica porque a relação entre quantidade de substrato e a concentração de sulfato, presente no meio, irá determinar o grupo de bactéria dominante na biomassa do reator (DAR, KLEEREBEZEM et al., 2008). O excesso de substrato no meio poderá favorecer a proliferação de outros micro-organismos que irão competir com as BRS pelo substrato disponível (Bertolino, 2012).

Os principais substratos orgânicos utilizados pelas BRS na redução do sulfato são o lactato, etanol, acetato, proprionato, butirato, metanol, fomiato (Liamleam, Annachhatre, 2007). As BRS podem ser classificadas quanto à forma de oxidação do substrato orgânico em: i) acetogênicas - BRS que oxidam incompletamente o substrato orgânico a acetato (*Desulfobulbus*, *Desulfomicrobium*, *Desulfomonas*, *Desulfovibrio*) e ii) acetoclásticas - BRS que oxidam completamente o substrato a CO_2 (*Desulfobacter*, *Desulfobacterium*, *Desulfonema*, *Desulfosarcina*, *Desulfococcus*, *Desulfomonile*) (Barton, 1995).

O estudo da cinética do processo de biorredução do sulfato se justifica pelo fato de que a partir destes estudos é possível estabelecer alguns parâmetros importantes para a otimização deste processo visando a aplicação em escala industrial (SILVA, 2009). O estudo cinético de determinado fenômeno ou processo se dá pela avaliação de algumas grandezas em função do tempo que possam quantificar adequadamente esta evolução temporal (Neto, 1999 apud (SILVA, 2009)). Durante este trabalho avaliamos a influência da razão DQO/Sulfato sobre a cinética do processo de biorredução do sulfato, acompanhando o consumo de substrato e produção de subprodutos (ácidos graxos voláteis), o decréscimo da concentração de sulfato no meio e a taxa de crescimento dos microorganismos. A partir do estudo detalhado das rotas metabólicas desenvolvidas pela cultura bacteriana foi possível diagnosticar competições e melhorar o desempenho do processo.

MATERIAIS E MÉTODOS

A seleção de produtos químicos, numa estação de tratamento, em conjunto com a otimização em laboratório. Para avaliar a atividade cinética da biomassa dos reatores foram realizados ensaios em batelada variando a razão DQO/sulfato, conforme tabela 1. O inóculo contendo a cultura mista de bactérias, utilizada nos ensaios em batelada, foi proveniente de um reator sulfetogênico UASB (BERTOLINO, RODRIGUES et al., 2012).

Tabela 1. Concentração do sulfato e DQO (mg/L) para cada razão DQO/sulfato estudada.

DQO/Sulfato(razão)	Sulfato (mg/L)	DQO(mg/L)
0.27	2111	580
0.47	2120	995
0.94	1950	1850
1.60	1901	3050
2.00	1861	3700
2.60	1900	4950

Para obter a razão DQO/sulfato desejada, houve modificações nas concentrações do substrato orgânico (lactato) do meio de cultivo Postgate C (POSTGATE, 1963) mantendo-se constante a concentração do sulfato (2.000mg/L). Os testes para acompanhamento do crescimento bacteriano, da cinética de remoção de sulfato e acompanhamento da estabilidade do processo durante os ensaios foram realizados em frascos âmbar. Alíquotas de 24 mL (5% v/v) de inoculo foram adicionadas aos frascos (Vútil=480mL) contendo o meio líquido Postgate C. Os ensaios foram realizados em duplicata, mantidos em estufa microbiológica a 35°C, por um período de 168 horas. Os parâmetros analisados periodicamente foram: sulfato, DQO, ácidos orgânicos, pH, Eh, temperatura, crescimento bacteriano.

As medidas de pH e Eh foram feitas em um medidor digital de pH/milivolt DIGIMED, modelo DM-20 com eletrodo tipo escoamento DME-CV1 (para o Eh) e eletrodo combinado de platina modelo DMR-CP1 (para pH). Todas as medidas de Eh apresentadas referem-se ao eletrodo padrão de Ag/AgCl. As análises de DQO foram realizadas segundo o “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (APHA, 1998). A DQO foi analisada em um espectrofotômetro UV/Vis (Hitachi – U2800A). Para determinação da DQO filtrada, utilizou-se membrana Milipore com 0,45µm de porosidade. Para reduzir o efeito do sulfeto de hidrogênio na determinação da DQO, a amostra do efluente era acidificada com ácido clorídrico concentrado e em seguida era realizada a purga do H₂S, com nitrogênio gasoso, durante 5 minutos. A determinação da concentração de sulfato nas amostras foi realizada por cromatografia de Íons com detecção por condutividade, utilizando o eluente Na₂CO₃/NaHCO₃ (0,5mM/L). Para a análise de sulfato, as amostras foram diluídas inicialmente 10 vezes em água MiliQ, na qual eram adicionados cristais de cloreto de cobre. Esta técnica minimiza a reoxidação química de sulfeto de hidrogênio a íons sulfato. Em seguida, as amostras foram centrifugadas, filtradas em membrana Milipore com 0,45µm de porosidade e diluídas novamente 10 vezes, antes de serem enviadas para análise, totalizando uma diluição de 100 vezes. Enquanto, as análises dos ácidos orgânicos foram realizadas em cromatógrafo HPLC (high performance liquid chromatography), marca Shimadzu - Serie 1050, utilizando-se uma coluna de troca iônica Aminex HPX-87H 300 mm x 7.8 mm da Bio-Rad. As curvas de calibração foram realizadas com padrões dos principais ácidos orgânicos (fórmico, acético, propiônico, butírico, isobutírico, valérico e isovalérico). A mistura de ácidos foi analisada em comprimento de onda de 210 nm e foram obtidos os cromatogramas para a construção das curvas de calibração. As concentrações dos padrões foram de 12,5, 25, 50, 100, 200 e 400 mg.L⁻¹. A fase móvel empregada foi ácido sulfúrico 0,01mol.L⁻¹, com uma vazão de 0,6 mL.min⁻¹. A temperatura da coluna foi mantida em 50°C e o volume de injeção empregado foi de 10 µL. O crescimento bacteriano foi monitorado nos ensaios em batelada pelo método direto que consiste na contagem microscópica direta das células bacterianas. Amostras líquidas serão extraídas do meio e com o auxílio de câmaras especiais de contagem (câmara de Neubauer) e de microscópio óptico (Leica – DM 2500M), o número total de células foi quantificado.

RESULTADOS

O crescimento das bactérias nos ensaios e a variação da concentração do sulfato com o tempo são apresentados na figura 1. O desempenho da biorredução de sulfato para uma cultura mista de bactérias é claramente influenciado pela razão DQO/sulfato. Para razões DQO/sulfato inferiores a 0.67 (razão estequiométrica de redução de sulfato), baixas eficiências na remoção de sulfato são observadas, onde uma eficiência máxima de 28% e 38% foi alcançada para as razões DQO/sulfato de 0.27 e 0.47, respectivamente.

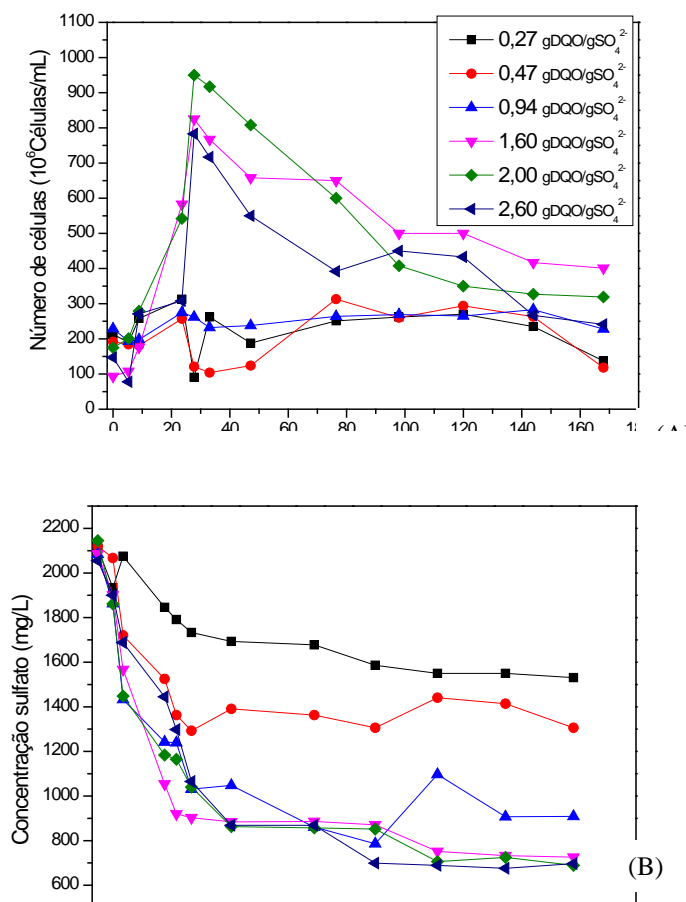


Figura 1. Número de células (A) e concentração de sulfato (B) ao longo do tempo, para as diferentes razões DQO/Sulfato.

Na biomassa utilizada nestes ensaios foram identificadas dois principais grupos de bactérias: i) as redutoras de sulfato que oxidam incompletamente lactato (*Desulfovibrio* sp) (Reação 1) e ii) as bactérias que fermentam o lactato a acetato e propionato (*Clostridium* sp) (Reação 2) (BERTOLINO et al., 2012). O consumo médio de sulfato observado para as razões DQO/sulfato de 0.36 e 0.63 foi de 6.98mmol/L o que equivale a uma produção teórica de acetato de 13.96mmol/l pela rota de redução de sulfato (Reação 1) podendo ser equiparada à media obtida no experimento de 15.41mmol/L. Portanto, para razões DQO/sulfato abaixo de 0.67 a rota metabólica predominante foi a reação de oxidação incompleta do lactato, verificada pela produção de acetato (Tabela 2). Sabendo que pela estequiometria da reação de oxidação incompleta do lactato (Reação 1) para a completa redução de 2000mg/L de sulfato seriam necessários 4000mgDQO/L, os resultados sugerem que em baixas concentrações de lactato (DQO < 1000mg/L) o substrato foi o fator limitante na biorremediação do sulfato.



Reação (1)



Reação (2)

Tabela 2. Concentração máxima de ácidos orgânicos nas diferentes razões DQO/Sulfato

	Razão DQO/Sulfato (g/g)					
Ácido orgânico (mmol/L)	0.27	0.47	0.94	1.60	2.00	2.60
Acetato	11.02	19.81	23.00	28.00	25.00	28.00
Propionato	1.67	1.34	4.40	12.80	27.00	28.00
Butirato	3.74	5.74	4.20	3.60	1.50	1.20

Para as razões DQO/sulfato acima de 0,94 observa-se uma estabilização da remoção de sulfato, concomitante com o aumento da competição entre os grupos das redutoras de sulfato e as bactérias fermentativas. Eficiências de remoção de sulfato de 61%, 62%, 63% e 64% foram observadas para as razões DQO/sulfato de 0.94, 1.60, 2.0 e 2.60, respectivamente. Na razão DQO/Sulfato de 0.94 foram reduzidos 12,30mmol/L de sulfato o que corresponde à produção teórica de 24.5mmol/L de acetato pela incompleta oxidação do lactato (Reação 1), o que corrobora com o resultado experimental obtido (Tabela2). Para as razões DQO/sulfato 1.6, 2.0 e 2.6 observa-se o aumento da atividade fermentativa evidenciado pelo acúmulo de propionato (Figura 2). Nas razões DQO/sulfato acima de 2.0 observa-se uma maior competição entre bactérias redutoras de sulfato e fermentativas pelo lactato. Acima de uma razão DQO/Sulfato 1.6, o lactato passa a estar em excesso, consequentemente o crescimento de bactérias fermentativas é favorecido, pois estas apresentam a maior constante de afinidade (k_s) pelo lactato. O acúmulo de propionato reforça a evidência da fermentação do lactato (Figura 2).

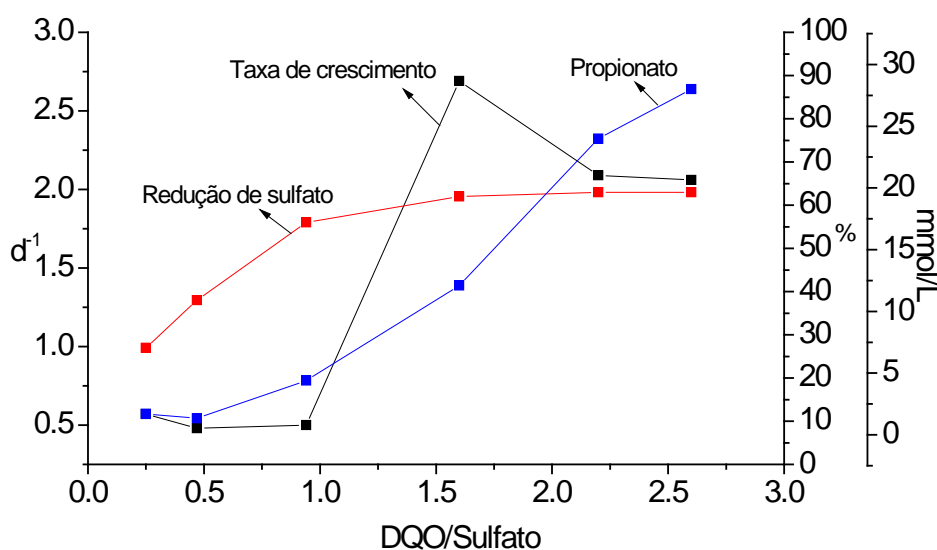


Figura 2. Crescimento bacteriano e produção de propionato em função da razão DQO/Sulfato.

CONCLUSÕES

O ensaio cinético em batelada foi realizado para estudar as possíveis rotas metabólicas de degradação do lactato e redução do sulfato e determinar a melhor razão DQO/Sulfato de crescimento das BRS. Em razões DQO/Sulfato maiores que 1,6 ($[SO_4^{2-}]$ constante), o aumento do substrato favoreceu o crescimento de bactérias fermentativas, o que é indicado pelo aumento de propionato no meio. A eficiência de remoção de sulfato manteve-se em torno de 60%, não havendo melhorias significativas com o aumento do substrato. Contudo em razões abaixo de 1,6, a biorredução também não é favorecida pois o lactato passa a ser limitante no processo, de acordo a reação de incompleta oxidação do lactato pelas BRS.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem as agências FINEP, FAPEMIG, CNPq e CAPES e à UFOP pelo auxílio fornecido para o suporte deste trabalho. A CAPES e ao CNPq pelo suporte financeiro e concessão de bolsas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BERTOLINO, S. M., I. C. B. RODRIGUES, et al. Implications of volatile fatty acid profile on the metabolic pathway during continuous sulfate reduction. *Journal of Environmental Management*, v.103, p.15-23. 2012.
2. DAR, S., R. KLEEREBEZEM, et al. Competition and coexistence of sulfate-reducing bacteria, acetogens and methanogens in a lab-scale anaerobic bioreactor as affected by changing substrate to sulfate ratio. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.78, n.6, p.1045-1055. 2008.
3. KAKSONEN, A. H. e J. A. PUHAKKA. Sulfate Reduction Based Bioprocesses for the Treatment of Acid Mine Drainage and the Recovery of Metals. *Engineering in Life Sciences*, v.7, n.6, p.541-564. 2007.
4. POSTGATE, J. R. Versatile medium for the enumeration of sulfate-reducing bacteria. *Applied Microbiology*, v.11, p.265-267. 1963.
5. SILVA, W. R. Estudo cinético do processo de digestão anaeróbia de resíduos sólidos vegetais. Programa de pós-graduação em química, UFPB, João Pessoa, 2009. 159 p.