

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

BÁRBARA FRANCO VIEIRA

**PRECIPITAÇÃO DE METAIS PROVENIENTES DE
DRENAGEM ÁCIDA DE MINAS POR SULFETO GERADO
POR VIA BIOLÓGICA**

POÇOS DE CALDAS/MG

2014

BÁRBARA FRANCO VIEIRA

**PRECIPITAÇÃO DE METAIS PROVENIENTES DE
DRENAGEM ÁCIDA DE MINAS POR SULFETO GERADO
POR VIA BIOLÓGICA**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia Ambiental pela Universidade Federal de Alfenas.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Renata Piacentini
Rodriguez

POÇOS DE CALDAS/MG

2014

Vieira, Bárbara Franco.

Precipitação de metais provenientes de drenagem ácida de minas por sulfeto gerado por via biológica / Bárbara Franco Vieira. – Poços de Caldas, 2014.

62 f. -

Orientador: Renata Piacentini Rodriguez.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2014.

Bibliografia.

1. Minas – Drenagem. 2. Tratamento biológico. 3. Redução de sulfato. 4. Precipitação de metais. I. Rodriguez, Renata Piacentini. II. Título.

CDD: 622.5

BÁRBARA FRANCO VIEIRA

**PRECIPITAÇÃO DE METAIS PROVENIENTES DE
DRENAGEM ÁCIDA DE MINAS POR SULFETO GERADO
POR VIA BIOLÓGICA**

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção de 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 22 de julho de 2014.

Prof^a. Renata Piacentini Rodriguez

Instituição: UNIFAL-MG

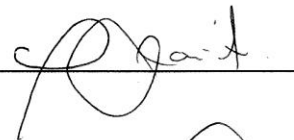
Assinatura: _____



Prof^o. Marcelo Zaiat

Instituição: USP-SP

Assinatura: _____



Dr. Theo Syrto Octavio de Souza

Instituição: USP-SP

Assinatura: _____



DEDICATÓRIA

Aos meus pais.

“Senhor, fazei-me instrumento de vossa paz.
Onde houver ódio, que eu leve o amor;
Onde houver ofensa, que eu leve o perdão;
Onde houver discórdia, que eu leve a união;
Onde houver dúvida, que eu leve a fé;
Onde houver erro, que eu leve a verdade;
Onde houver desespero, que eu leve a esperança;
Onde houver tristeza, que eu leve a alegria;
Onde houver trevas, que eu leve a luz.

Ó Mestre, Fazei que eu procure mais
Consolar, que ser consolado;
compreender, que ser compreendido;
amar, que ser amado.
Pois é dando que se recebe,
é perdoando que se é perdoado,
e é morrendo que se vive para a vida eterna.”

- Francisco de Assis

AGRADECIMENTOS

A Deus não existem palavras que possam agradecer, pois sou dependente de sua graça que é favor imerecido e seu amor que é incondicional. “Deus não é instável e nem caprichoso, não conhece épocas de mudanças. Tem um único posicionamento inflexível em relação a nós: Ele nos ama”¹. “Porque d’Ele, e por meio d’Ele, e para Ele são todas as coisas. A Ele, pois, a glória eternamente. Amém!”² “Tu me cercas por trás e por diante e sobre mim pões a mão. Tal conhecimento é maravilhoso demais para mim: é sobremodo elevado, não o posso atingir.”³

À minha orientadora Renata por me doar mais do que conhecimentos adquiridos, mas por sua longanimidade e benignidade no trato comigo, seu exemplo de organização, equilíbrio, humildade e bom gosto e pelos cafés especiais que me serviu.

A minha mãe que me levou ao caminho do conhecimento da bondade de Deus, que me ensina o valor do trabalho e da honestidade e das muitas formas de demonstrar amor.

Ao meu pai que mesmo nos momentos difíceis me deu carinho, me ensinou a perdoar e me mostrou que podemos nos libertar de nossas prisões internas.

Foram os gestos simples dos meus avós ao me ensinar a brincar com philipe de café ou me levar na praça para subir nas árvores que iniciou a formação de uma bióloga pesquisadora. Também agradeço a eles.

Em minha jornada até mais esta conquista fui recebida carinhosamente em diversas casas onde tive mais do que travesseiro, tive colo, oração, exemplos que fazem parte de tudo o que foi construído em mim. Agradeço a Neusa, Márcia, vó Natália, tio Roberto, tia Cida, tia Lê, Antônio, que me receberam e aos tantos que me deram carona no trajeto até a faculdade.

Ao João Paulo especialmente, que começou me ensinando meu primeiro trabalho na Fundação Jardim Botânico de Poços de Caldas, “Porque todas as flores que hoje sei

Foi você quem me ensinou”⁴, esteve presente nos meus momentos mais difíceis e acabou por se tornar uma das pessoas mais importantes da minha vida. Junto dele estava também a Zane, quando chorei, quando sorri e gargalhei, quando briguei. Outros amados amigos também optaram por estar perto de uma pessoa de temperamento tão difícil quanto é o meu. Com vocês desde os programas mais simples como filme e pipoca, panha de café ou as melhores viagens ficam muito mais ricas e os fardos mais leves. "Quer-me quando menos o merecer, pois será aí que mais o necessito”⁴. E aos amigos como a Dani, Vinicius e Maria que compreenderam minha ausência quando o trabalho e os estudos consumiram a maior parte do meu tempo em detrimento aos nossos momentos, mas que estiveram presentes, ligados espiritualmente em oração, e também a Lea e tantos outros que oraram por mim.

À minha irmã e a nossa Rachelzinha cujos sorrisos me renovaram e não me deixaram desistir quando eu estava cansada.

A todos os professores que participaram da minha formação desde a alfabetização e pintura até o corpo docente da pós-graduação e em especial aos pastores e professores de Escola Dominical. Na escola convencional eu aprendi que a junção de “b” mais “a” era “ba” o que foi primordial. Na escola dominical eu aprendi que devo questionar, quem disse ba, ba é bom, verdadeiro, honesto, justo, amável, de boa fama, e em ba há alguma virtude? Enfim, a escola dominical tem uma enorme influência na construção dos meus valores e também da minha personalidade questionadora que permitiu que hoje eu fosse uma pesquisadora.

Foram muitas as vezes que precisei de ajuda na faculdade e no laboratório, um trabalho que eu nunca teria realizado sozinha. Agradeço especialmente a minha colega Pâmela e a todos os demais colegas de laboratório e funcionários, secretário e técnicos que estiveram disponíveis quando precisei.

Ao grupo PIBID, colégio Nini Mourão e a Escola Estadual João de Souza Gonçalves, funcionários e alunos que acreditaram em mim e me auxiliaram a amadurecer na docência e amor ao ensino.

Ao CNPq que disponibilizou a verba para realização das pesquisas, a UNIFAL e a todos os que contribuíram de maneira direta ou indireta na realização deste projeto.

- 1- Brennam Manning
- 2- Romanos 11
- 3- Salmo 139
- 4- Michele Leal
- 5- Pablo Neruda

“Como cientista, vejo o mundo em minha volta e observo mecanismos de engenharia com uma complexidade tão notável que chego a conclusão de que há um projeto inteligente por trás de tal ordem complexa.” Andrew
Mcintosh

“Cada animal é, de certa forma projetado especialmente para se ajustar ao ambiente específico em que vive. Não posso deixar de atribuir a complexidade de tal projeto a um Criador, em vez de a forças evolucionárias movidas ao acaso.” Bob Hosken

RESUMO

Minerais sulfetados expostos às condições atmosféricas podem ocasionar impactos. O rejeito da atividade mineradora, metais reduzidos, em contato com o oxigênio e água, resulta na liberação de prótons, íons sulfato e metais no meio aquoso, processo acelerado por bactérias. Ao meio formado dá-se o nome de Drenagem Ácida de Minas (DAM). A biorremediação vem sendo investigada para o tratamento deste efluente. Bactérias redutoras de sulfato possibilitam simultaneamente elevação de pH, remoção de sulfato e consequentemente de metais por precipitação na forma de sulfetos metálicos. Publicações anteriores revelam bons resultados, entretanto poucas investigaram simultaneamente a geração de alcalinidade, redução de sulfato, oxidação de etanol e remoção de metais em condições que gradativamente se aproximam das condições reais da DAM. Este projeto investigou o processo de precipitação dos metais ferro, zinco e cobre por sulfeto gerado a partir de um reator biológico em batelada para redução de sulfato de drenagem ácida de minas tendo como doador de elétrons o etanol. O trabalho foi dividido em duas etapas sendo que a primeira possuía variação do pH e a segunda na concentração de metais. Foi observado que independente do pH inicial, ocorreu geração de alcalinidade, sendo o pH final observado em todos os ciclos entre 6 e 7. O abaixamento do pH inicial esteve relacionado diretamente às melhores taxas de remoção de sulfato, sendo as remoções alcançadas de 39, 44 e 52%, para o pH inicial de 6, 5 e 4, respectivamente. A remoção de sulfato também melhorou conforme se aumentou a concentração de metais. Enquanto havia apenas ferro a remoção de sulfato foi de 57% em média, com ferro e zinco de 61% e com ferro, zinco e cobre a remoção chegou a 82% em média. Em todas as condições a remoção de DQO foi alta, com no mínimo 91% de média e chegando a 100%. As remoções de metais chegaram a 92% em média para ferro, 99% para zinco e em 100% para cobre. O parâmetro cinético (k) variou de acordo com os distintos valores de remoção de sulfato. Na fase inicial onde houve adaptação do inóculo, o ajuste cinético de ordem 1 não representou bem o comportamento do reator refletindo uma instabilidade nessa fase da operação ($0,14 \pm 0,15$) h⁻¹. A partir do decaimento do pH inicial, o ajuste cinético de ordem 1 representou bem o comportamento dos dados e o parâmetro k aumenta consideravelmente sendo que quando todos os metais já haviam sido adicionados foi obtido o maior valor ($0,44 \pm 0,04$) h⁻¹. Quanto ao ferro, os parâmetros cinéticos obtidos indicaram que o valor do k foi menor quando a precipitação do ferro concorria com a presença de zinco e cobre. A avaliação do sulfato nesta configuração de reator biológico permitiu estabelecer condições favoráveis de operação e mostrou que

sistemas sulfetogênicos respondem melhor em baixos pHs e na presença de alguns metais, conforme as condições da DAM sintética se aproxima das reais. Essa condição é essencial quando se objetiva a utilização de sistemas sulfetogênicos para biorremediação de drenagem ácida de minas.

Palavras-chave: Drenagem ácida de minas. Tratamento biológico. Redução de sulfato. Precipitação de metais. ASBR.

ABSTRACT

Sulfide minerals exposed to atmospheric conditions may cause impacts. The tailings from mining activity, reduced metals in contact with oxygen and water result in the release of protons, sulfate ions and metals in aqueous environment, a process accelerated by microorganisms. The designation for this effluent is Acid Mine Drainage (AMD). Bioremediation has been investigated for the treatment of this effluent. Sulfate-reducing bacteria enable simultaneous pH elevation, sulfate removal and consequently metals removal by precipitation as metal sulfides. Previous published researches reveal satisfying results, although few have investigated simultaneously the generation of alkalinity, sulfate reduction, oxidation of ethanol and removal of metals in conditions that gradually approach the real conditions of DAM. This research investigated the process of precipitation of the metals iron, zinc and copper by sulfide generated from a biological batch reactor for sulfate reduction of acid mine drainage, having the ethanol as electron donor. The study was divided into two stages, the first of which had variation in pH and the second, in the concentration of metals. It was observed that regardless of the initial pH, alkalinity generation has occurred and the final pH observed in all cycles remained between 6 and 7. The decline of the initial pH was directly related to the best sulfate removal rates and the achieved removals 39, 44 and 52%, for the initial pH of 6, 5 and 4, respectively. The sulfate removal was also improved as increased the concentration of metals. While there was only iron, sulfate removal was 57% on average; with iron and zinc, it was 61%; and with iron, zinc and copper removal reached 82% on average. In all conditions the COD removal was high, with at least 91% average and reaching 100%. The removals of metals reached 92% on average for iron, 99% for zinc and 100% for copper. The kinetic parameter (k) varied according to different values of the sulfate removal. In the initial phase, in which there was adaption of the inoculum, it did not represent well the behavior of the reactor, reflecting instability in this phase of the operation (0.14 ± 0.15) h⁻¹. As the initial pH decays, the kinetic adjustment of order 1 represents well the behavior of the data and the parameter k increases considerably; plus, when all the metals had been added, the highest value was obtained (0.44 ± 0.04) h⁻¹. As for the iron, the kinetic parameters obtained indicated that the value of k was reduced when the precipitation of iron competed with the presence of zinc and copper. The evaluation of sulfate in this configuration of biological reactor allowed us to establish favorable conditions of operation and showed that sulfetogenic systems respond better at low pHs and in the presence of certain metals, as the conditions of the synthetic DMA approach the actual ones. This condition is

essential when one aims to use sulfetogenic systems for bioremediation of acid mine drainage.

Keywords: Acid mine drainage. Biological treatment. Sulfate reduction. Metal precipitation. Biological batch reactor.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	Objetivos específicos	17
3	REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1	Drenagem ácida de mina – DAM	18
3.2	Tratamento abiótico da DAM	20
3.3	Tratamento biológico de DAM	21
3.4	Bactérias redutoras de sulfato – BRS	25
3.5	Reator em Bateladas Sequenciais	27
3.6	Considerações Finais	30
4	METODOLOGIA	32
4.1	Reator Anaeróbio Operado em Bateladas Sequenciais – ASBR	32
4.2	Água residuária e inóculo	34
4.3	Protocolo experimental	35
4.4	Ajuste cinético	37
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1	Operação do reator na Etapa 1: Avaliação do pH inicial	39
5.2	Operação do reator na Etapa 2: Avaliação da presença de metais ...	43
5.3	Análise cinética das Etapas 1 e 2	49
6	CONCLUSÕES	56
	REFERÊNCIAS	57

1 INTRODUÇÃO

A drenagem ácida de minas (DAM) tem origem em processos químicos e biológicos naturais, porém pode ser intensificada na atividade mineradora onde são estocados pilhas de rejeitos de minérios associados a sulfetos. Em contato com o oxigênio e água, estes minerais são oxidados dando origem a sulfato dissolvidos e íons H^+ . Estes por sua vez são responsáveis pelo abaixamento de pH que faz com que a drenagem solubilize metais contidos no solo e nas rochas agravando o problema na qualidade da água, nos ecossistemas aquáticos e do entorno dos corpos d'água e contaminação de aquíferos.

A velocidade de geração de águas ácidas em minas é influenciada principalmente pelo pH, temperatura, presença de oxigênio e água, atividade química do Fe^{3+} , presença de microrganismos que catalisam a geração de DAM e a superfície de contato dos sulfetos metálicos com os fatores envolvidos.

No Brasil, esta problemática tem sido destacada na região carbonífera ao sul do país e na Unidade de Tratamento de Minérios – Indústrias Nucleares do Brasil UTM/INB em Poços de Caldas.

O tratamento químico convencional da DAM inclui os processos de neutralização da acidez com reagentes alcalinos e precipitação dos íons metálicos da solução aquosa (Ladeira e Gonçalves, 2007). Este tratamento proporciona a precipitação de metais trivalentes, porém metais divalentes como Zn, Mn, Cd, Co e Ni também são encontrados na DAM. Para precipitação eficiente destes metais é necessário que o sistema atinja valores de pH entre 8 e 10. Além disto, este tratamento gera subprodutos de difícil disposição. Uma alternativa para o tratamento destes efluentes é a biorremediação usando bactérias redutoras de sulfato – BRS, um grupo bastante diversificado de microrganismos capazes de utilizar o sulfato como acceptor final de elétrons. No sistema anaeróbio, o sulfato é reduzido na

presença de um doador de elétrons consumindo a acidez do meio e produzindo sulfeto como produto final. Os íons de sulfeto produzidos podem reagir com os metais presentes na DAM formando sulfetos metálicos que precipitam como fase sólida. Desta forma, possibilita-se a remoção de sulfato, a elevação do pH, além da recuperação dos metais por precipitação.

A redução biológica do sulfato em ambiente anaeróbio pelas BRS pode ocorrer em sistemas de tratamento de águas residuárias projetados para esta finalidade. Para a adequação deste sistema de tratamento é necessária a compreensão das interações feitas por estes microrganismos, a resposta de seu metabolismo nas condições em que se encontra o efluente, da cinética das reações de conversão dos substratos aos produtos finais e o conhecimento das reações químicas posteriores que envolvem os produtos finais do metabolismo do consórcio microbiano e os componentes da DAM. Para esta proposta de tratamento surgiram diferentes configurações de reatores entre os quais se pode destacar o reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais, ASBR, operado em quatro diferentes etapas: enchimento, reação, sedimentação e descarga. O fato deste reator excluir os fluxos de entrada e saída durante a fase reacional proporciona estudos de cinética das reações bioquímicas. Além disso, esta configuração permite o tratamento de efluentes gerados intermitentemente. Apesar da facilidade de adaptação do ASBR a escala laboratorial e a flexibilidade operacional no que tange ao tempo reacional, poucos trabalhos vêm sendo relatados para esclarecer o comportamento deste tipo de sistema com biomassa granular submetido às condições da DAM com relação a seu pH e a presença dos principais metais nas concentrações em que geralmente ocorre neste tipo de efluente. E poucas pesquisas utilizam etanol como doador de elétrons, uma molécula que pode favorecer o tratamento por ser compatível com enzimas presentes em várias espécies de BRS (RODRIGUEZ, 2010).

Buscou-se com esta pesquisa contribuir com o desenvolvimento do tratamento biológico para DAM, sua aplicação em escala plena avaliando a eficiência de um ASBR tratando DAM sintética.

2 OBJETIVOS

Este projeto teve como principal objetivo a investigação da redução dissimilativa de sulfato em DAM sintética em reator anaeróbio com biomassa granular operado em bateladas sequenciais utilizando etanol como fonte de carbono.

2.1 Objetivos específicos

Os objetivos específicos foram:

- a) Analisar a influência do pH afluente sobre a redução do sulfato e a geração de alcalinidade;
- b) Analisar a influência da presença de metais (ferro, zinco e cobre) sobre a redução do sulfato, geração de alcalinidade e sobre a remoção dos próprios metais da fase líquida a partir da precipitação dos sulfetos metálicos formados.

3 REVISÃO DE LITERATURA

Tem sido observado na literatura resultados promissores de pesquisas com tratamento biológico envolvendo Bactérias redutoras de sulfato para remoção de sulfato de DAM. O ASBR especificamente possui características que proporcionam seu uso para este fim. Aqui serão apresentadas informações acerca destes assuntos previstos na literatura, como os trabalhos de Ladeira; Gonçalves (2007) sobre as características da DAM, de Castillo et al. (2012) sobre tratamentos biológicos, Bactérias redutoras de sulfato por Hansen (1994) e Dague et al. (1992), pioneiro dos estudos envolvendo o ASBR.

3.1 Drenagem ácida de mina – DAM

A DAM é produto de processos químicos e biológicos que ocorrem naturalmente. Sua formação pode ser intensificada a partir da atividade mineradora a céu aberto ou subterrânea, ou ainda, a partir de bacia de rejeitos ou pilhas do estéril e de estocagem de minerais associados a sulfetos (LADEIRA; GONÇALVES, 2007). Em duas localidades do país este problema tem se destacado: a região carbonífera no sul do país e na Unidade de Tratamento de Minérios – Indústrias Nucleares do Brasil UTM/INB em Poços de Caldas. Os minerais contendo sulfetos são oxidados quando em contato com oxigênio e água gerando sulfato dissolvido e íons H^+ responsáveis pelo abaixamento de pH e a solubilização dos metais presentes no solo e nas rochas. A oxidação química dos sulfetos metálicos pode ocorrer por duas vias. A pirita (FeS_2), bioossulfeto de molibdênio (MoS_2) e sulfeto de tungstênio (WS_2) sofrem o mecanismo via tiosulfato e os demais sulfetos metálicos são oxidados quimicamente pelo mecanismo de polissulfeto. No primeiro

processo, o produto final é o ácido sulfúrico e no segundo polissulfetos são gerados primeiramente e depois oxidado parcialmente em enxofre elementar. No entanto, ambos os mecanismos são facilitados pela participação de microrganismos quimiolitotróficos acidófilos que mantêm uma elevada concentração de íon férrico, importante oxidante químico. Destaca-se a participação de bactérias como *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *At. thiooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans* e *L. ferriphilum* que oxidam o enxofre elementar em sulfato.

Altas concentrações de sulfato, de metais (Cu , Cd, Co , Ni , Zn , etc), baixo pH (entre 2 e 4) e alta condutividade na DAM trazem inúmeros prejuízos de cunho ambiental, social e econômico. Com o baixo pH, os íons metálicos adquirem a capacidade de penetrar membranas biológicas causando toxicidade a biota (DENICOLA; STAPLETON, 2002), levando a uma queda da biodiversidade, o que restringe as comunidades a organismos tolerantes a estas condições e traz alterações aos ciclos dos elementos físico-químicos do ambiente. Além destes prejuízos, a acidez da água destrói a capacidade de tamponamento do bicarbonato nos sistemas aquáticos (GRAY, 1997). Apesar da oxidação não ser um processo essencialmente de origem biológica, ele pode ser acelerado na presença dos procariotos litotróficos que catalisam a oxidação do mineral pela geração do íon férrico. Apesar da pequena quantidade de substratos disponíveis nas regiões de DAM, já são conhecidos 11 grupos distintos de procariotos nestes ambientes (BAKER; BANFIELD, 2003). Além da presença dos microrganismos, os seguintes fatores influenciam na velocidade de geração de DAM: presença de oxigênio, pH, temperatura, superfície de contato dos sulfetos metálicos com os microrganismos envolvidos e a atividade química do Fe^{3+} que em pH entre 2,3 e 3,5 precipita como $Fe(OH)_3$ e jarosita disponibilizando íons H^+ na fase líquida e contribuindo para o abaixamento do pH (AKCIL; KOLDAS, 2006).

Diante desta problemática apresentada, a primeira proposta é evitar a geração da DAM, impedindo o contato dos reagentes (oxigênio e água) com o minério. Depois da geração de DAM, se lançado o efluente em cursos receptores, o processo de autodepuração nos rios é geralmente insuficiente

(SÁNCHEZ et al., 2013). Existem diferentes propostas para o tratamento utilizando-se de processos químicos, físicos ou biológicos.

3.2 Tratamento abiótico da DAM

As possibilidades de tratamento abiótico incluem osmose reversa, evaporação, troca iônica, separação magnética e adição de produtos químicos, sendo esta última a mais convencional. Primeiramente, o íon ferroso (Fe^{2+}) é oxidado por aeração. Depois seguem os processos de neutralização da acidez com reagentes alcalinos, aumento de pH e precipitação dos íons metálicos da solução aquosa, de forma a se obter um efluente para reuso e descarte nos rios em conformidade com o estabelecido pela Resolução do CONAMA 357 (BRASIL, 2005). Utiliza-se, por exemplo, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e CaO que reagem com o sulfato presente na água ácida formando $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, que por sua vez precipita. Este processo tem baixa eficiência na remoção de sulfato, produz altas cargas de subproduto, grandes quantidades de gesso contaminados com metal pesado de reutilização limitada, necessitando de deposição adequada (SÁNCHEZ et al., 2013).

São exemplos de processos de tratamento físico-químico: (OACS) “open alkali channels” – Canais alcalinos abertos – e (PRB) “permeable reactive barriers” – Barreiras reativas permeáveis. Esses processos se constituem de meios reativos que permitem aumento do pH e remoção de metais pesados e metalóides por adsorção, precipitação e co-precipitação e imobilização biológica. Os compostos mais comuns utilizados nos OACs são o calcário e ferro de valência zero e são eficientes em remover metais pesados e baixar o pH, porém podem provocar entupimento nos sistemas de tratamento comprometendo a condutividade hidráulica ou formando uma barreira por revestimento dos meios alcalinos. O sistema (SAPS) – “successive alkalinity producing system” – Sistema de produção de alcalinidade sucessiva é usado para reduzir íons Fe^{3+} para a forma ferrosa antes do contato com a camada

de calcário e é composto por uma camada orgânica e uma camada de calcário. Este sistema possui permeabilidade mais eficiente, porém necessita ter a camada orgânica periodicamente trocada além da lavagem do sistema para obter longevidade (LIU et al., 2013).

A maioria das estratégias de tratamento passivo promove a correção da acidez e remoção de metais em reatores químicos com adição de reagentes alcalinos, o que provoca a precipitação de hidróxidos e remoção eficiente de metais trivalentes como Fe e Al. Fases secundárias podem reter oligoelementos por adsorção e ou processos de co-precipitação (BIGHAM; NORDSTROM, 2000). Porém as águas de DAM geralmente apresentam concentrações elevadas de metais divalentes como Zn e Mn e concentrações menores de Cd, Co, e Ni. A precipitação induzida quimicamente destes metais requer valores de pH entre 8 e 10. A adição de calcário resulta normalmente em pH entre 6 e 7 (CORTINA et al., 2003).

3.3 Tratamento biológico de DAM

A biorremediação é um método de tratamento que faz um uso tecnológico de microrganismos para remoção ou remediação de poluentes em águas superficiais, subterrâneas ou solos. Entre as alternativas para biorremediação da DAM estão os processos anaeróbios de redução de sulfato.

O tratamento biológico se baseia no uso de Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS). Dentro da biodiversidade microbiana, as BRS tem uma enorme importância econômica, ambiental e biotecnológica (CASTILLO et al., 2012). Este é um grupo taxonomicamente bastante diverso de bactérias anaeróbias capazes de fazer a redução do sulfato mediante a oxidação de substratos orgânicos ou H₂ em ambiente anaeróbio para conservação de energia e/ou crescimento microbiano. Os sistemas de tratamento biológico podem ser “in-situ” ou “ex-situ”. Como a DAM não possui concentrações

significativas de matéria orgânica, tal substrato deve ser adicionado ao sistema para efetivação deste tratamento.

Outros processos biológicos fazem a remoção de metais de águas residuárias, como bioissorção, acúmulo intracelular, complexação, oxidação-redução, metilação combinada com volatilização e precipitação extracelular (KAKSONEN; PUHAKKA, 2007). Além disso, muitos processos biológicos são capazes de gerar alcalinidade ou consumir acidez e, dessa forma, tem potencial para serem usados no tratamento da drenagem ácida. Os processos incluem fotossíntese, desnitrificação, amonificação, metanogênese e a redução dos íons ferro e sulfato. A redução do sulfato, entretanto, ocupa lugar de destaque, por combinar a remoção de acidez, de sulfato e de metais.

A aplicação de processos biológicos de redução de sulfato no tratamento de águas de mineração tem sido extensivamente estudada e inúmeros tipos de tratamento já foram propostos e se dividem basicamente em processos passivos e processos ativos (KAKSONEN; PUHAKKA, 2007).

Os tratamentos ativos em bioreatores contendo uma biomassa mais especializada e com maior controle do processo surgem, então, para contornar as desvantagens dos tratamentos passivos como a competição com outros grupos microbianos.

A redução do sulfato libera íons HCO_3^- que somado ao consumo de prótons elevam o pH, eliminando uma das problemáticas da DAM. O sulfeto produzido pode facilmente reagir com metais bivalentes formando sulfetos metálicos insolúveis que precipitam e podem ser recuperados para utilização em outros processos industriais (SÁNCHEZ et al., 2013).

As BRS competem com diferentes grupos microbianos por acetato, propionato e butirato. O ambiente anaeróbio é complexo físico, químico e biologicamente e estratégias devem ser desenvolvidas para controlar esta competição de modo a tornar o tratamento eficaz. Harada et al. (1994) afirmam que o uso de acetato e hidrogênio trazem vantagens do ponto de vista termodinâmico para as BRS sobre as metanogênicas. O controle do pH também é relevante para controle desta competição e da precipitação dos

metais em solução, e influencia em função da presença de H_2S livre (KAKSONEN; PUHAKKA, 2007).

Em pH baixo, as metanogênicas são severamente afetadas enquanto existem BRS acidotolerantes e acidófilas (OMIL et al., 1996). Devido a tantas variáveis interferentes no processo, os sistemas “ex-situ” em reatores sulfetogênicos apresentam-se vantajosos por permitirem um maior controle dos parâmetros e do desempenho, além de outras vantagens relativas a outras tecnologias, como a alta eficiência na remoção de sulfato e metais, baixa produção de resíduos perigosos e o controle da precipitação seletiva através do controle do pH para recuperação dos metais a partir do lodo.

Diferentes modelos de reatores visam objetivos distintos onde são observados parâmetros específicos, como por exemplo, a influência do pH sobre a comunidade microbiana e os sulfetos metálicos formados. Alguns sistemas fazem a neutralização prévia da DAM, pois o baixo pH implica em maior investimento energético no bombeamento de prótons através da membrana citoplasmática pelas BRS, que tem pH ótimo entre 6 e 8 (HOUTEN et al., 1994). A formação do sulfeto metálico depende da concentração de íons metálicos, íons sulfeto e principalmente do pH, portanto existem outras configurações de reatores com controle de pH onde a precipitação dos metais pode ocorrer separadamente facilitando a recuperação seletiva dos mesmos (NANCUCHEO; JOHNSON, 2014). Em alguns sistemas, por outro lado, a alcalinidade é gerada durante o tratamento biológico e os metais são precipitados simultaneamente ocorrendo sem neutralização prévia da DAM reduzindo custos com reagentes (HIIBEL et al., 2011). O controle do pH deve ser feito em concomitância com a escolha do doador de elétrons, No entanto, ambos os mecanismos são facilitados pela participação de microrganismos quimiolitotróficos acidófilos que mantém uma elevada concentração de íon férrico, importante oxidante químico. Destaca-se pois intermediários metabólicos podem favorecer ou dificultar o tratamento mudando o rendimento energético de acordo com sua forma em determinado pH. De acordo com o pH, varia a difusão para dentro da célula dos prótons, sulfetos e ácidos orgânicos, alterando a quantidade de

energia para manutenção e crescimento celular relacionado com alterações no bombeamento de prótons pela membrana. Substratos não iônicos como glicerol, hidrogênio, álcoois ou açúcares são mais convenientes para aplicações com baixo pH (ALAZARD et al., 2010; SÁNCHEZ et al., 2013; MEIER et al., 2012; JOHNSON et al., 2009).

Rodriguez (2010) avaliou a remoção biológica de sulfato em DAM sem tratamento prévio, com adição de etanol em dois reatores anaeróbios, um com crescimento granular (UASB) e outro com biomassa aderida (RAHLF). As variáveis testadas foram a relação DQO/SO₄²⁻, correção do pH afluente, carga de sulfato aplicada e a recirculação da fase líquida. Utilizando a relação estequiométrica de 0,67, a remoção de sulfato foi maior que 70% com pequeno acúmulo de ácido acético no efluente e mais eficiente com relação de 1. No UASB foi analisado também o volume da manta de lodo. Em ambos os reatores, uma redução na carga de sulfato foi essencial para um melhor funcionamento do UASB. A recirculação do efluente levou o reator a um colapso e só foi positiva com água de abastecimento. A autora conclui também que a combinação de uma fonte de matéria orgânica com menor número de carbono com um inóculo com alta diversidade microbiana leva a um maior crescimento microbiano. O inóculo proveniente de um reator tratando água residuária de abatedouro de aves apresentou boa adaptação na presença de etanol sendo por isso escolhidos para os ensaios além do menor custo do etanol frente ao ácido fórmico.

A influência do pH sobre o tratamento de DAM com relação a remoção de sulfato e metais foi analisada por Jiménez-Rodríguez et al. (2009). A remoção de metais observada foi em função do pH inicial. Em pH 3,5, a maior parte do ferro foi removida, enquanto Cu e Zn foram apenas parcialmente removidos. Já em pH 5,5, a eficiência do processo foi melhor com porcentagens de remoção de 91,3% para Fe, 96,1% para Cu, 79% para Zn e 99% para Al.

Lu et al. (2011) testaram a tolerância do sistema de redução de sulfato em baixos valores de pH afluente e alta disponibilidade de fonte de carbono. A redução do sulfato teve uma melhor eficiência quando se passou do pH 1

para 2 tendo se mostrado insuficiente na primeira condição. A remoção de Cu ultrapassou 98% e 85% de Zn em pH 2. A maioria dos microrganismos isolados do sistema pertencia aos seguintes gêneros que demonstraram alta tolerância a elevada acidez do sistema: *Clostridiaceae*, *Eubacterium*, *Pseudobutyrvibrio* e *Clostridium*. Foi também obtida precipitação seletiva com o controle do pH. O zinco não precipitava quando o pH era de 1.

O tratamento de DAM foi avaliado em um reator em coluna por Tsukamoto et al. (2004) onde se variou a fonte de carbono, pH e temperatura. Os resultados mostraram eficiência acima de 80% quando na utilização de etanol como doador de elétrons e 93% de remoção de ferro. Observou-se também a eficiência do tratamento mesmo em pH 2,5 e 6° C, mas o tratamento se mostrou mais eficiente quando o pH do afluente era corrigido para 5,0.

Estudos em escala piloto realizados por Jong e Parry (2003) com um biorreator de coluna anaeróbia contendo bactérias redutoras de sulfato para tratamento de DAM mostraram eficiência ao se alterar o pH de 4,0 para cerca de 7,2, com remoção superior a 80% do sulfato e 97% dos metais. Este processo apresentou menores custos comparado a neutralização por adição de uma substância alcalina.

3.4 Bactérias redutoras de sulfato – BRS

O nome “bactéria redutora de sulfato” é convencionalmente reservado para microrganismos que conduzem a redução dissimilatória do sulfato. Os microrganismos redutores de sulfato compreendem um diverso grupo entre Bactérias e Arqueias anaeróbias que possuem em comum a capacidade de usar sulfato como acceptor final de elétrons (HANSEN, 1994). Apesar de ser um grupo estritamente anaeróbio, as BRS mostram alguma resistência ao oxigênio, podendo ser encontradas ativas em condições temporariamente aeróbias criando estratégias como o deslocamento dos organismos para

regiões anóxicas, criação de microambientes anóxicos através de floculação, agregação de O_2 e sistemas enzimáticos que fazem a redução e eliminação de O_2 (DOLLA et al., 2006). Culturas deste grupo heterogêneo foram isoladas de diferentes e antagônicos ambientes, como psicrófilos, hipertermófilos, em baixas concentrações de NaCl e hipersalinos.

O processo anaeróbio na presença de sulfato pode ser dividido em 4 principais etapas: hidrólise, acidogênese, acetogênese, e sulfetogênese. Na primeira etapa, os microrganismos degradam a matéria orgânica complexa em compostos mais simples dissolvidos como aminoácidos, açúcares e lipídeos. Tais compostos são convertidos em ácidos graxos de cadeia curta na acidogênese que na acetogênese formam principalmente acetato, hidrogênio e CO_2 . Os substratos gerados nos dois últimos podem ser consumidos pelas competidoras metanogênicas. Na sulfetogênese, H_2 , acetato, lactato, propionato, etanol ou alguns álcoois são oxidados a CO_2 ou intermediários metabólicos quando a oxidação é incompleta tendo o sulfato como acceptor de elétrons e gerando H_2S ou suas formas iônicas como produto final (MADIGAN et al., 2002). Apenas uma pequena parcela do sulfeto é assimilada pelos microrganismos, sendo a maior parte excretada na forma de íon sulfeto normalmente na forma de H_2S em pH abaixo de 8,0.

Os microrganismos redutores de sulfato tem um papel de grande importância biogeoquímica no ciclo do enxofre. Quando na presença de sulfato, estes desempenham importante papel na degradação de matéria orgânica. A geração de sulfeto está relacionada a problemas de corrosão que podem ocorrer nas redes de esgotos, entretanto, há interesse tecnológico nesse processo devido ao potencial para atuação em sistemas de tratamento de remoção de metais pesados (HANSEN, 1994).

As BRS possuem a capacidade de metabolizar uma grande variedade de compostos, desde hidrogênio, ácidos carboxílicos, álcoois, açúcares e aromáticos. A oxidação dos substratos orgânicos pode ocorrer completamente ou de maneira incompleta, sendo acetato o produto final. A escolha do doador de elétrons em tecnologias que utilizam processos redutores de sulfato será dependente da sua aplicação e das variáveis mais

importantes em cada caso, entre elas a disponibilidade, o custo, a maior ou menor geração de acetato, a existência de competição com as arqueias metanogênicas e a geração de alcalinidade. Além disso, o processo será diretamente influenciado pelo tipo de reator, tipo de inóculo, concentração de sulfato e de metais, temperatura de operação, pH e tempo de detenção hidráulica (KAKSONEN; PUHAKKA, 2007).

A competição das arqueias metanogênicas pelos substratos acetato e H_2 , intermediários nos processos de redução de sulfato, podem reduzir a eficiência da remoção do mesmo se estratégias operacionais não forem adotadas. Do ponto de vista termodinâmico, as BRS levam vantagem sobre o uso de acetato e hidrogênio, com variações de energia livre (ΔG^0) mais negativas do que as metanogênicas, além de um metabolismo mais versátil (MUYZER; STAMS, 2008).

A concentração de íons sulfato, a DQO afluyente e a razão DQO/SO_4^{2-} são outros fatores que afetam a competição entre as BRS e as metanogênicas. Com o aumento da razão DQO/SO_4^{2-} , as reações de metanogênese prevalecem sobre a sulfetogênese, enquanto com a proximidade dessa razão aos valores estequiométricos (DQO/sulfato de 0,67), nota-se aumento da atividade das BRS e da quantidade de sulfeto produzido (KAKSONEN; PUHAKKA, 2007). Mohan (2005) obteve eficiência de 82% na remoção de sulfato submetendo o reator a um período de adaptação que favorecesse as BRS em contrapartida a uma eficiência entre 16 e 27% no reator que não passou por este processo.

3.5 Reator em Bateladas Sequenciais

Na década de 70, os processos anaeróbios de tratamento de água residuárias foram valorizados e surgiram novas concepções físicas das unidades de conversão biológica (SILVA, 2005).

Grande parte das configurações de reatores anaeróbios usados em tratamento de águas residuárias de altas taxas pode também ser empregada para processos que visam a remoção de compostos de enxofre.

Os tipos de reatores mais utilizados para remoção de sulfato de águas residuárias são o reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais - ASBR (DAGUE et al., 1992), reator anaeróbio de fluxo ascendente de manta de lodo - UASB (MIZUNO et al., 1994), reator anaeróbio de leito expandido - EGSB (SMUL et al., 1997), reator anaeróbio de leito fixo operado em batelada alimentada sequencial - ASBBR (RIBEIRO et al., 2005).

Dague et al. (1992) foram os primeiros a avaliarem o uso do ASBR (reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais) para remoção de matéria orgânica de águas residuárias baseadas na floculação das bactérias que permitem a operação do reator em batelada sem um sistema adicional de decantação. Dague et al. (1992) concluem que o ASBR tem características únicas que permitem que o tratamento atinja altas taxas de conversão do substrato em metano e dióxido de carbono.

A operação do reator em batelada ocorre em 4 etapas: enchimento, reação, sedimentação e descarga, constituindo um ciclo. O tempo da reação é o mais longo e importante do ciclo, visto que é o momento da conversão da matéria orgânica e é influenciado pela qualidade do efluente, concentração e características do substrato e da biomassa (DAGUE, 1992). A operação em regime intermitente possibilita controlar a duração do tempo de ciclo de modo a se obter a qualidade desejada do efluente tratado para lançamento no corpo receptor de acordo com os padrões de emissão estabelecidos, além de poder tratar efluentes gerados de maneira intermitente ou somente algumas épocas do ano, diferente dos reatores contínuos. Alguns fatores como a estratégia de alimentação, relação substrato e biomassa inicial, agitação e configuração física do reator podem alterar o desempenho do ASBR (ZAIAT et al., 2001).

A flexibilidade operacional que esta configuração apresenta possibilita controlar a adição de matéria orgânica proporcionando uma diluição, tal como na alimentação contínua do afluente. Além disso, o fato dos reatores

em batelada não terem entrada de afluente e nem saída de efluente durante o período reacional, faz com eles sejam um bom método de estudos da cinética das reações bioquímicas. Eles possuem fácil adaptação à escala laboratorial, exigem poucos equipamentos auxiliares e pouca instrumentação.

Apesar do tratamento anaeróbio de remoção de sulfato de águas residuárias ser um tema frequente, ainda é um assunto recente que demanda muitas investigações sobre novas alternativas de tratamento e a resposta dos processos que regem a redução biológica do sulfato pelas BRS às características de pH e composição de metais da DAM. Além disto, os reatores contínuos são mais estudados que os reatores em batelada e batelada alimentada (MOCKAITIS, 2010). Silva (2005) utilizando água residuárias sintética avalia a biosulfatação, a posterior biodessulfatação e a comunidade microbiana em ASBR com biomassa imobilizada variando-se o material suporte e estudando a influência do etanol no processo e as rotas de utilização dos substratos orgânicos. O trabalho conclui que a característica intrínseca do material suporte influencia no equilíbrio microbiano, que a relação DQO/SO₄²⁻ de 1,3 foi a melhor condição para os meios suporte espuma de poliuretano e carvão vegetal. O autor relata uma eficiência média de 96% que foi favorecida pela adição de etanol.

Ainda sobre reatores em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada, pode-se ser citar o trabalho de Sarti et al. (2010) que optaram por carvão mineral como material suporte por ter custo semelhante ao carvão vegetal sem os problemas operacionais causados pelo mesmo. Neste trabalho foi utilizada DAM sintética rica em sulfato. Utilizaram também a recirculação do meio líquido. A água residuária tinha pH entre 2,3 e 3,2, porém era corrigido para 7 em todas as etapas analisadas e concentração de sulfato média de (201±35)g l⁻¹. O tempo de ciclo foi de 48 horas. Os resultados obtidos pelos autores mostraram eficiências de remoção de sulfato acima de 85% em todas as etapas, chegando a 92% quando aplicada uma carga de sulfato de 0,15 kg ciclo⁻¹ e 85% para carga de sulfato de 1,9 kg ciclo⁻¹. Foi notado, entretanto, queda na eficiência de remoção de DQO com o

aumento da carga de sulfato aplicada, resultado principalmente da DQO residual composta por ácidos voláteis totais e sulfetos totais dissolvidos.

Mockaitis (2010) avaliou o emprego do ASBR, com biomassa granulada e agitação mecânica utilizando sistema tipo draft-tube. O reator operou em ciclos de 8 horas, em batelada e batelada alimentada, com água residuária sintética ($500 \text{ mg DQO l}^{-1}$) contendo sulfato em diferentes relações DQO/SO₄²⁻. Para os tempos de alimentação de 10 min, 3 h e 6 h, respectivamente, as eficiências de remoção de sulfato foram de 30, 72 e 72% nas operações nas quais o reator foi alimentado com uma relação DQO/SO₄²⁻ de 1,34. Nos ensaios nos quais o reator foi alimentado na relação DQO/SO₄²⁻ de 0,67, as eficiências para a redução de sulfato foram de 25, 58 e 55%, respectivamente. Na operação com relação DQO/SO₄²⁻ de 0,34, as eficiências para redução de sulfato foram de 23, 37 e 27%, respectivamente.

Apesar de terem sido avaliadas até mesmo rotas metabólicas da redução biológica de sulfato, influência de meios suportes no caso de biomassa imobilizada, diferentes relações de DQO/SO₄²⁻ entre outras variáveis, é incomum trabalhos que tenham avaliado a influência do pH real e concentrações de metais pesados conforme as características da DAM em reatores anaeróbios em bateladas sequenciais com biomassa granular.

3.6 Considerações Finais

Uma hipótese acerca da possibilidade de remoção de sulfato de águas ácidas de minas em reatores anaeróbios foi levantada devido ao fato dos resultados promissores dos trabalhos publicados sobre a redução de sulfato em diferentes condições. No entanto, a maioria dos trabalhos sobre tratamento de drenagem ácida preconizam a necessidade de pré-tratamento no afluente, principalmente para correção de pH. Este trabalho, portanto, procurou oferecer alternativas de tratamento da DAM em condições próximas das encontradas no meio de geração, sem que fosse necessário

algum tratamento prévio da água residuária. Para este fim, em um Reator Anaeróbio Operado em Bateladas Sequenciais (ASBR), partindo-se de um meio em condições favoráveis aos microrganismos, possibilitando a aclimatação, diminui-se gradativamente o pH. Em um segundo momento, mantendo o pH baixo adicionou-se também metais encontrados na DAM real.

4 METODOLOGIA

Os experimentos realizados incluíram os ensaios de redução biológica de sulfato operados em um reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais (ASBR) em duas etapas, ambas inoculadas com lodo granular proveniente de abatedouro de aves alimentadas com DAM sintética.

4.1 Reator Anaeróbio Operado em Bateladas Sequenciais – ASBR

O reator utilizado neste trabalho foi um reator em batelada confeccionado em acrílico com 6 l de volume total. O esquema do reator pode ser visto na Figura 4.1. O fundo do reator possui uma inclinação para o centro, tendo altura na parede inferior a do centro. Foi utilizado um impelidor do tipo hélice com três pás inclinadas contido em um sistema do tipo “draft tube” que visa uma minimização da destruição dos grânulos de biomassa pela rotação da hélice (Mockaitis, 2010). A temperatura foi mantida a 30 °C por um banho-maria circulante em uma câmara separada da câmara de tratamento que envolve o corpo do reator e o reator foi operado com agitação de 50rpm. Foi constatado por ensaios preliminares que esta rotação era suficiente para manter a homogeneização do meio e que rotações acima destes valores proporcionava a destruição parcial dos grânulos. A homogeneização foi avaliada por meio da condução de correntes elétricas com a adição de uma solução concentrada de NaCl.

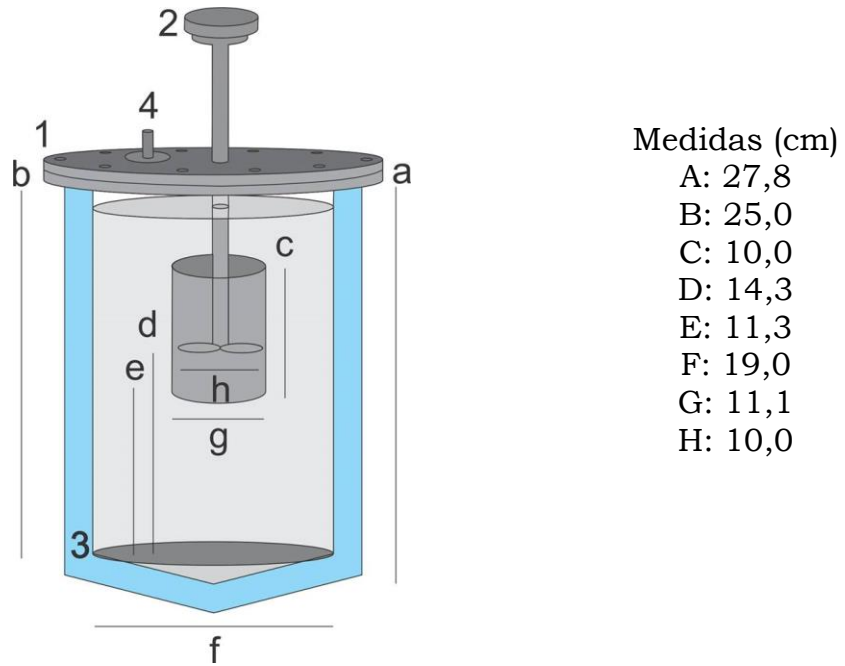


Figura 4.1 - Esquema do ASBR com as principais medidas onde:

- 1- Tampa do ASBR
- 2- Agitação Mecânica
- 3- Circulação de banho térmico
- 4- Saída de gás.

Fonte: Da autora.

O reator foi envolvido com material opaco que não permitia a passagem de luz com o propósito de impedir o crescimento de organismos fototróficos que poderiam interferir no consórcio microbiano de interesse do tratamento.



Figura 4.2 - Foto do reator ASBR em operação.
Fonte: Da autora.

4.2 Água residuária e inóculo

O volume total de 6 l do reator foi preenchido com 5 l de DAM sintética e 1 l de biomassa. O inóculo utilizado foi lodo granular proveniente de um reator UASB tratando resíduo de abatedouro de aves (Avícola Dacar) na cidade de Tietê, São Paulo. Devido a um grande período de funcionamento do reator de origem do inóculo, este se apresenta com uma grande biodiversidade, o que confere grandes possibilidades de adaptação às condições adversas a que é submetido no tratamento da DAM. Além disso, Rodriguez, 2010 afirma que este inóculo se desenvolve bem na presença de etanol como doador de elétrons, apresentando valores de biomassa aderida

(C_{max}) superiores aos obtidos nos reatores com inóculo proveniente de sedimento de mina.

Foi utilizada drenagem ácida sintética cuja composição está descrita na Tabela 4.1. A composição utilizada é próxima da mais frequentemente apresentada pela DAM real e foi baseada na proposta por Kaksonen et al. (2007) e as variações estiveram relacionadas com os objetivos de cada etapa de operação. Na primeira etapa composta pelas fases I, II e III, o parâmetro de avaliação foi o pH inicial, enquanto, na segunda etapa, fases IV, V e VI, foram adicionados os metais Fe^{2+} , Zn^{2+} e Cu^{2+} respectivamente.

Tabela 4.1 - Composição da drenagem ácida sintética ($mg\ l^{-1}$).

Fases	Na_2SO_4	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	NH_4Cl	NaH_2PO_4	$ZnCl_2$	$CuCl_2$
I, II e III	590	88	17	115	68	15	-
IV	356	110	450	115	68	15	-
V	356	110	450	115	68	46	-
VI	356	110	450	115	68	46	13

Fonte: Da autora.

As concentrações de DQO (demanda química de oxigênio) e sulfato foram mantidas em $500\ mg\ l^{-1}$ em todas as etapas. O doador de elétrons e a fonte de carbono escolhidas foi etanol e sulfato de sódio foi utilizado como receptor de elétrons. A concentração de Fe^{2+} nas fases IV, V e VI foi de $100\ mg\ l^{-1}$, o Zn^{2+} foi adicionado nas fases V e VI na concentração de $20\ mg\ l^{-1}$ e Cu^{2+} adicionado na fase VI na concentração de $5\ mg\ l^{-1}$.

4.3 Protocolo experimental

Na fase de enchimento do reator, o meio era homogeneizado fora do reator, e a correção do pH realizada com HCl 1M. O tempo de enchimento não ultrapassava 2 minutos. Depois, a tampa do reator era fechada de modo a ficar vedada e o agitador ligado. As amostras de entrada eram coletadas

entre 10 e 15 minutos após o término do enchimento e o tempo de ciclo de 48h escolhido arbitrariamente.

Descarga: Após a retirada das amostras do efluente o agitador era desligado, os sólidos sedimentados em um tempo aproximado de 2 minutos e o reator era aberto e esvaziado com uma mangueira por diferença de pressão. O processo de descarga demorava ao todo por volta de 15 minutos.

Repouso: O tempo de repouso entre um ciclo e outro consistia apenas no período em que o novo meio era preparado e homogeneizado. Entre o fim da descarga e o início do enchimento do próximo ciclo decorriam por volta de 15 minutos.

A Tabela 4.2 apresenta o procedimento experimental onde constam as características das duas Etapas estudadas. A primeira Etapa foi constituída das Fases I, II e III, quando o reator foi operado sem adição de metais, apenas contendo água ácida sintética, etanol e sulfato. Neste período, a variável analisada foi o pH inicial. As operações duraram oito meses durante os quais o tempo de cada fase variou, sendo a primeira fase mais longa, visando à aclimação das BRS e o tempo necessário para o estabelecimento da sulfetogênese.

Na Etapa 2, fases de IV a VI, o reator foi alimentado com os metais Fe, Zn e Cu. As concentrações de metais foram definidas de acordo com a toxicidade das BRS a esses metais, reportada na literatura (Hao, 2000; Kaksonen et al., 2004) e também em função da produção teórica estimada de sulfeto de acordo com a seguinte estequiometria: 1g de Fe, Zn e Cu requer 0,57; 0,49 e 0,25 g de sulfeto para formar o sulfeto correspondente (FeS, ZnS e Cu₂S). A quantidade de metais adicionada foi calculada em função da máxima quantidade teórica de sulfeto que poderia ser produzido em cada etapa, de forma que todo o metal disponível pudesse ser precipitado. A concentração obtida é também bastante próxima da observada na DAM real.

Tabela 4.2 - Tempo de operação e características do meio.

Fases	Procedimento Experimental					
	Etapa 1			Etapa 2		
	I	II	III	IV	V	VI
pH	6,0	5,0	4,0	4,0	4,0	4,0
Fe ²⁺ (mg l ⁻¹)	-	-	-	100	100	100
Zn ²⁺ (mg l ⁻¹)	-	-	-	-	20	20
Cu ²⁺ (mg l ⁻¹)	-	-	-	-	-	5
Tempo de operação (d)	78	25	34	37	8	8

Fonte: Da autora.

Foram feitas análises da drenagem sintética no afluente, no momento em que era adicionado no reator e no efluente, antes que o meio fosse trocado novamente. Nas primeiras três fases as análises foram pH, sulfato, DQO e sulfeto em meio líquido. As demais etapas incluíram análises também de Fe, Zn e Cu em meio líquido, no afluente e no efluente. Ao término de cada fase, foram realizados perfis temporais ao longo do ciclo de operação. Todas as análises foram realizadas de acordo com o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012).

4.4 Ajuste cinético

O modelo de cinética de primeira ordem foi ajustado aos perfis temporais de concentração de sulfato. O modelo de primeira ordem foi escolhido, pois representa uma simplificação do modelo cinético de Monod (equação 4.1) para baixas concentrações de substrato. Nessa condição, considera-se que $K_M + S$ possa ser representado por um K_M (equação 4.2). O crescimento microbiano nesse caso é considerado constante devido ao lento crescimento da biomassa e o curto tempo de realização do perfil temporal. Frente a essas considerações e aplicando as condições de contorno adequadas (de forma a descrever a formação de um patamar), a solução do modelo de primeira ordem utilizado está descrito na equação 4.3.

$$-\frac{dS}{dt} = \mu_{m\acute{a}x} \cdot \frac{S}{K_M + S} \cdot \frac{C_X}{Y_{X/S}} \quad (4.1)$$

$$\frac{dS}{dt} = -\left(\frac{\mu_{m\acute{a}x} \cdot C_X}{K_M \cdot Y_{X/S}}\right) \cdot S = -k \cdot S \quad (4.2)$$

Sendo:

$\frac{dS}{dt}$: velocidade de consumo de sulfato ($\text{mg l}^{-1} \text{ h}^{-1}$);

$\mu_{m\acute{a}x}$: velocidade máxima de crescimento específico (h^{-1});

S : concentração de substrato (mg l^{-1});

C_X : concentração de biomassa (mg SVT l^{-1});

K_M : constante de Monod (mg l^{-1})

k : constante cinética aparente;

$$S(t) = S_f + (S_0 - S_f) \cdot e^{-k \cdot t} \quad (4.3)$$

Sendo:

t : tempo,

S_f : concentração final de sulfato - patamar (mg l^{-1}),

S_0 : concentração inicial de sulfato (mg l^{-1})

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aqui será apresentado os resultados referentes a Etapa 1, quando é avaliado o reflexo das mudanças no pH inicial e da Etapa 2, momento em que se avalia as mudanças ocorridas no sistema mediante a adição de metais.

5.1 Operação do reator na Etapa 1: Avaliação do pH inicial

Na etapa 1, foi avaliada a resposta do reator a diferentes valores de pH inicial. A Tabela 5.1 sintetiza os dados referentes à média dos valores encontrados na drenagem sintética na entrada dos ciclos das fases da Etapa 1. O pH inicial se mantém bastante próximo dos valores previstos com uma pequena variação na fase I, quando não havia controle com adição de HCl. A relação DQO/SO₄²⁻ se mantém próxima do valor previsto de 1, com uma variação na fase II quando há um aumento na concentração de DQO.

Tabela 5.1- Médias apresentadas nas análises de entrada dos ciclos da Etapa 1.

Fase	DQO (mg l ⁻¹)	SO ₄ ²⁻ (mg l ⁻¹)	DQO/SO ₄ ²⁻	pH	Tempo de ciclo (h)
I	547,81	434,02	1,26	6,39	48
II	775,77	422,0	1,83	5,03	48
III	492,06	612,15	0,8	3,95	48

Fonte: Da autora.

A Figura 5.1 mostra o comportamento médio do pH no início e no final dos ciclos em cada uma das fases analisadas na Etapa 1. Na fase I, o pH inicial não foi controlado e se manteve entre 6,96-5,59 com média de 6,39±0,09 e o pH no final dos ciclos ficou entre 6,96-5,85 com média de 6,46±0,08. Na fase II, o pH corrigido com HCl 1M foi mantido entre 5,34-4,86 com média de 5,03±0,05 e o pH final resultante esteve entre 7,14-6,58

com média de $6,74 \pm 0,07$. Na fase III, houve correção de pH inicial para valores próximos aos encontrados nas DAM reais entre 4,15-3,62 com média de $3,95 \pm 0,03$ e pH final entre 6,98-5,8 com média de $6,43 \pm 0,08$.

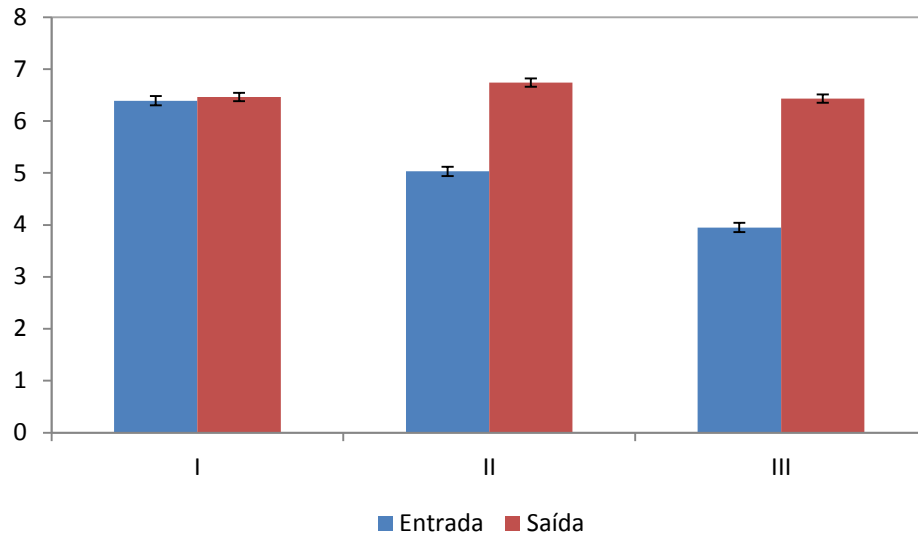


Figura 5.1 - pH médio no início e no fim dos ciclos de da Etapa 1.
Fonte: Da autora.

A Figura 5.1 indica que houve uma conversão do pH final para valores próximos de 6,5, independente do pH inicial, o que confirma um consumo de acidez e produção de alcalinidade como consequência da redução do sulfato a sulfeto. Além disso, o consumo de acidez é importante para possibilitar a precipitação de sulfetos metálicos. O gás sulfídrico (H_2S) atua como um ácido fraco e sofre sua primeira desprotonação (HS^-) em pH 6,4 e a segunda (S^{2-}) em pH 12,9. Em uma solução ácida, é esperado um aumento na volatilização do sulfeto e redução do potencial de formação de sulfetos metálicos. De acordo com a distribuição dos íons em função do pH, espera-se que 50% das espécies estejam na forma de HS^- em pH 6,4. De acordo com Kaksonen e Puhakka (2007), este valor de pH seria adequado para a precipitação de diferentes metais como sulfetos ou hidróxidos, principalmente Cu, Cd, Zn e Fe(III), com menor precipitação de Fe(II), Ni e Mn.

Na Figura 5.2 são apresentadas as remoções médias de sulfato e DQO em porcentagem para cada uma das fases que compõem a primeira etapa.

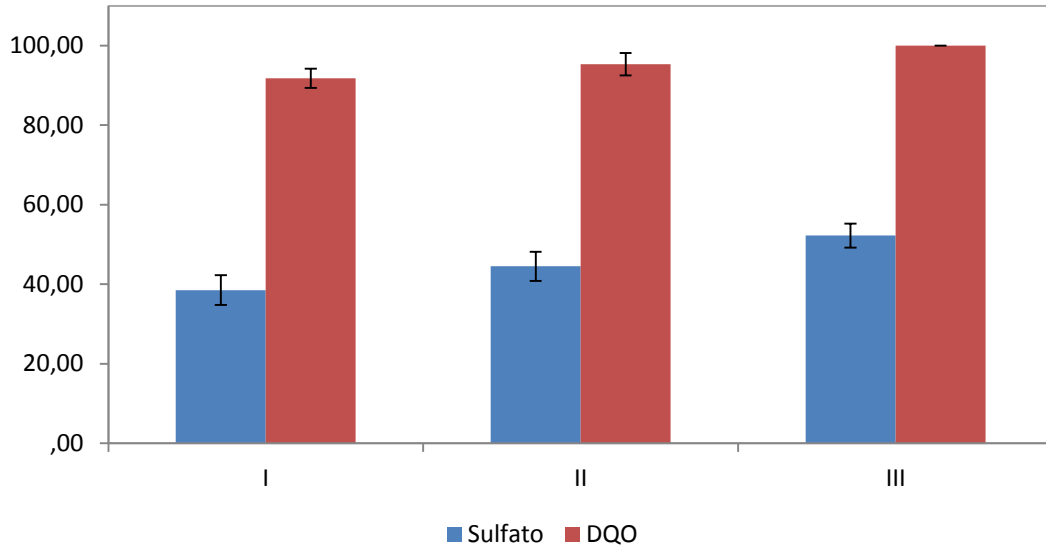


Figura 5.2 - Remoções médias de DQO e sulfato observadas na Etapa 1.

Fonte: Da autora.

Na primeira fase, a remoção de sulfato ficou entre 23,8-48,4% com média de $38,5 \pm 3,7\%$, enquanto a remoção de DQO esteve entre 74,4-100,0% com média de $91,7 \pm 2,4\%$. Na fase II, a remoção de sulfato subiu para valores entre 32,1-59,2% com média de $44,4 \pm 3,7\%$ e a de DQO ficou entre 82,82-100% com média de $95,3 \pm 2,8\%$. A fase III, quando o pH inicial apresenta os menores valores testados, tem-se a maior remoção de sulfato da Etapa 1 entre 41,76-64,96% com média de $(52,2 \pm 3,0)\%$ e $(100 \pm 2,0)\%$ de remoção média de DQO.

O fato da remoção de DQO ser alta desde o início do processo pode ser resultado das características do inóculo utilizado, que proveniente de um reator anaeróbio com longo tempo de operação apresenta alta diversidade microbiana (HIRASAWA, 2008). Isso confere uma grande capacidade de adaptação às condições impostas, além de possibilitar que a matéria orgânica tenha sido empregada em diferentes vias metabólicas além da sulfetogênese, como por exemplo, a fermentação e a metanogênese. O período de adaptação do pH na Etapa 1 pode ter sido fundamental para esta

crescente melhora na eficiência do reator, tendo proporcionado a adaptação da biomassa. Conforme ocorre o abaixamento de pH, a remoção de DQO continua alta enquanto a de sulfato aumenta, o que indica um direcionamento de parte da matéria orgânica utilizada para vias sulfetogênicas em detrimento das vias alternativas como a metanogênese e a fermentação.

A crescente remoção da DQO da fase I para a fase III pode indicar que essa diferença deve-se exclusivamente a remoção de sulfato. Considerando a estequiometria da remoção completa de etanol na presença de sulfato (5.1), tem-se que na fase III houve um incremento da remoção de DQO de 9,0% em comparação a fase I, o que significa uma quantidade de 45 mg DQO l⁻¹. Essa quantidade de DQO, se destinada exclusivamente a redução do sulfato, resultaria em uma remoção de 67,5 mg l⁻¹. Os dados mostraram que a diferença na quantidade de sulfato removida nas fases I e III foi de 68,5 mg l⁻¹. Dessa forma, fica claro que a melhora na remoção da DQO na fase III comparada a fase I deve-se somente a melhora na remoção de sulfato neste mesmo período.



Mohan et al. (2005) estudaram um reator anaeróbio em bateladas sequenciais no tratamento de água residuárias contendo sulfato com o objetivo de avaliar a eficiência do processo através de aclimatação da biomassa, alimentando o reator com condições de meio que favorecesse o desenvolvimento das BRS antes da operação do reator com a água residuária. O reator que não passou por este processo de adaptação mostrou uma eficiência de 25-35% em remover matéria orgânica e 16-27% em remover sulfato, enquanto o reator que passou pelo processo de adaptação apresentou uma eficiência média de 78% na remoção de matéria orgânica e de até 82% da redução de sulfato.

Sendo o inóculo utilizado proveniente de um reator metanogênico neutrofilico, a diminuição progressiva do pH visou proporcionar melhor aclimatação das BRS. O inóculo continha um diverso consórcio microbiano rico em arqueias metanogênicas, espécies diretamente influenciadas pelo pH afluente. Abaixo do pH 5,5 é esperada total inativação das metanogênicas, prevalecendo a sulfetogênese no sistema quando o sulfato está disponível como receptor de elétrons (SPEECE, 1996). Em uma revisão dos processos de remoção de águas residuárias, Lens et al. (1998) relataram que o pH tem forte influência na competição entre BRS e metanogênicas, onde estas últimas tem suas enzimas desativadas em pH abaixo de 5,5. O abaixamento de pH nesta etapa se mostrou eficiente em diminuir a competição entre BRS e metanogênicas como esperado, o que é revelado com a melhora do sistema em remover sulfato.

5.2 Operação do reator na Etapa 2: Avaliação da presença de metais

Na Etapa 2, o pH inicial foi mantido em 4,0 em todas as fases e os metais Fe, Zn e Cu foram adicionados sequencialmente à DAM sintética a fim de avaliar o potencial de precipitação desses metais com o sulfeto gerado na redução do sulfato. Ainda com a presença dos metais nessa etapa, a redução do sulfato gera alcalinidade.

A Tabela 5.2 sintetiza os dados referentes à média dos valores encontrados na drenagem sintética na entrada dos ciclos das fases da Etapa 1. O pH inicial se mantém bastante próximo dos valores previstos. A relação DQO/SO_4^{2-} se mantém próxima do valor previsto de 1, com uma queda na fase IV, quando há um decaimento na concentração de DQO relativo ao valor previsto. As concentrações de metais apresentam-se com valores pouco abaixo dos valores previstos.

Tabela 5.2- Médias apresentadas nas análises de entrada dos ciclos da Etapa 2.

Fase	DQO (mg l ⁻¹)	SO ₄ ²⁻ (mg l ⁻¹)	DQO/ SO ₄ ²⁻	pH	Tempo de ciclo (h)	Ferro (mg l ⁻¹)	Zinco (mg l ⁻¹)	Cobre (mg l ⁻¹)
IV	342,06	490,24	0,69	3,8	48	98,43		
V	484,65	454,68	1,06	3,91	48	87,25	18,00	
VI	550,25	400,90	1,37	3,9	48	82,94	13,11	4,54

Fonte: Da autora.

A Figura 5.3 mostra o comportamento do pH no início e no final do ciclo de cada uma das fases analisadas na Etapa 2.

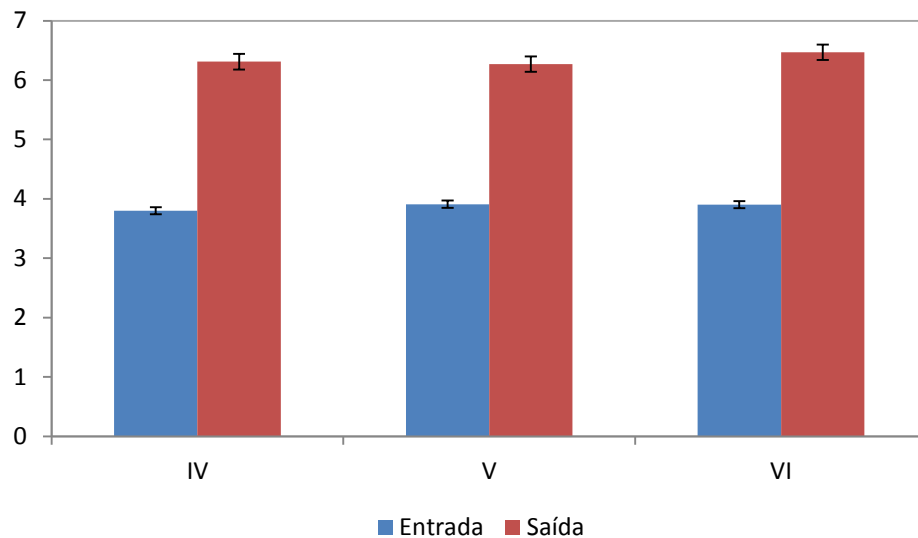


Figura 5.3 - O pH médio no início e no fim dos ciclos da Etapa 2.

Fonte: Da autora.

Nota-se que o pH final sobe em todas as fases para valores entre 5,9-6,76. Na fase IV, o pH final médio foi de $6,31 \pm 0,09$, enquanto na fase V, de $6,27 \pm 0,13$, e na fase VI, $6,47 \pm 0,09$. Na Etapa 2, parece ter existido uma sutil diferença no consumo de acidez relativo a Etapa 1. Os valores de pH no final dos ciclos na Etapa 2 são relativamente menores do que na Etapa 1, onde a média dos pH finais é de 6,5 e na Etapa 2 de 6,34. Isso pode ter ser consequência da hidrólise ocorrida durante a precipitação dos metais, o que provoca uma pequena inibição no aumento de pH (SÁNCHEZ, 2013), de acordo com a equação 5.1.



sendo M^{2+} metais como o Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} e Ag^{2+} .

Na literatura podem ser encontrados outros trabalhos que obtiveram uma produção de alcalinidade muito semelhante às deste trabalho. Behum et al. (2011) monitoraram um biorreator com drenagem oriunda de uma mina de carvão com uma média de pH afluente de 2,9 e altos níveis de sulfato, alumínio, ferro e manganês. Os resultados deste estudo indicaram que houve um aumento do pH final para 6,2 e um decréscimo na concentração de sulfato de 2981 para 1750 mg l⁻¹, de Fe de 450,6 para 1,76 mg l⁻¹, de Al de 113 para 0,42 mg l⁻¹ e de Mn de 36,4 para 23,3 mg l⁻¹. No consórcio microbiano utilizado no biorreator foram identificadas espécies de microrganismos capazes de reduzir sulfato e outras de espécies que fazem reoxidação de espécies de enxofre reduzidas.

Bai et al. (2013) também conseguiram um afluente com pH de 6,2 utilizando um reator anaeróbio de fluxo ascendente de leito múltiplo (UAMB) a 25°C. A DAM utilizada possuía pH afluente de 2,75, alta concentração de sulfato e metais pesados. Fe^0 foi adicionado a fim de aumentar a atividade das BRS. 61% do sulfato foi removido, 99% do cobre, 86% do ferro e não houve alterações no nível de manganês no efluente.

Martins et al. (2011) avaliaram um reator anaeróbio de leito fixo com fluxo ascendente (UAPB) com DAM oriunda de duas fontes distintas, e chegou ao mesmo resultado para ambas. Aumento do pH de 2,8 para 6,5, 99% de remoção dos metais e remoção de sulfato maior que 72%. Já a composição do consórcio microbiano foi diferente para as duas DAM distintas.

A Figura 5.4 apresenta as remoções médias de DQO e sulfato encontradas nas fases de operação da Etapa 2.

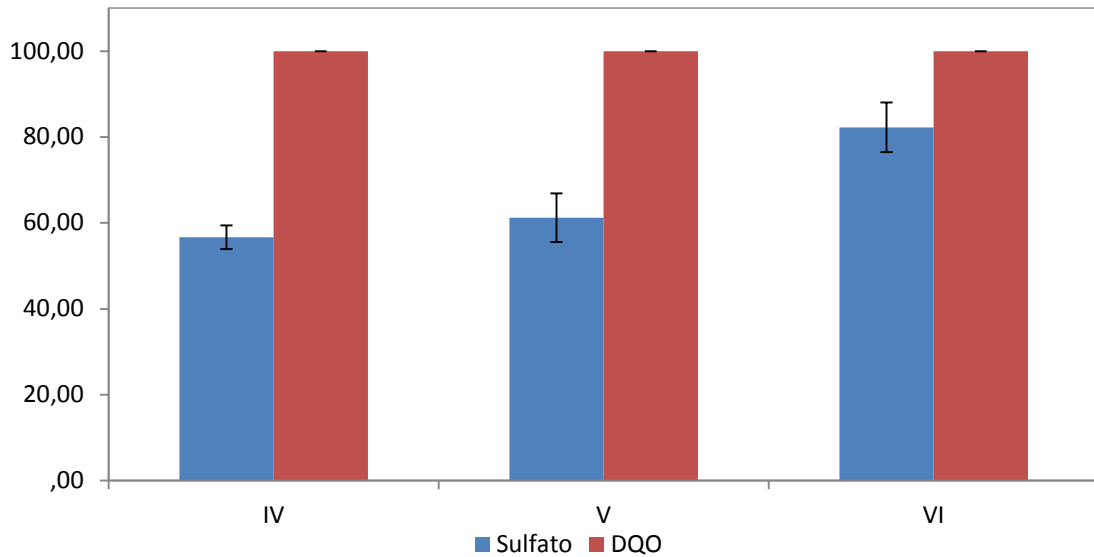


Figura 5.4 - Remoções de DQO e sulfato observadas na Etapa 2 (Fases IV, V e VI).
Fonte: Da autora.

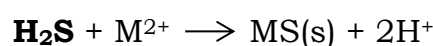
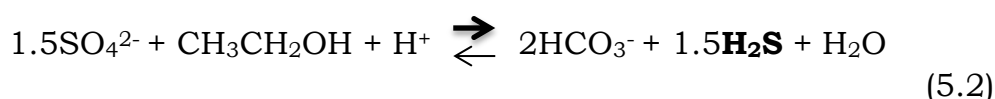
Logo no início da operação da Etapa 2, nota-se uma melhora na remoção de sulfato comprada a última fase da Etapa 1. Na fase IV, com adição de Fe^{2+} , as remoções de sulfato estiveram entre 50,75-71,34% com média de $56,7 \pm 2,7\%$. Na fase V, contendo Fe^{2+} e Zn^{2+} , a remoção de sulfato sobe ficando entre 55,78-74,71% com média de $61,2 \pm 5,6\%$. Na última fase, cuja DAM contém Fe^{2+} , Zn^{2+} e Cu^{2+} , a remoção de sulfato chega aos maiores valores, entre 74,38-93,83% com média de $82,2 \pm 5,8\%$, indicando que quanto maior a presença de metais pesados, melhor foi a eficiência do reator.

Tsukamoto et al. (2004) também obtiveram remoções de sulfato de 80% em sistemas operados com águas ácidas contendo ferro em solução. Além disso, os autores obtiveram sistemas operados estáveis com um pH inicial de 2,5.

O aumento na remoção de sulfato observado na Etapa 2 pode ser atribuído aos efeitos da precipitação do sulfeto junto dos metais adicionados. O sulfeto produzido pode reagir e precipitar micronutrientes importantes para a confecção de enzimas das BRS (RODRIGUEZ, 2010). Os metais adicionados competem então com os micronutrientes diminuindo o efeito tóxico do sulfeto. O deslocamento do equilíbrio químico trazido como consequência da presença dos metais (5.2) também pode ter influenciado no

aumento da eficiência do reator. Com a adição de metais, o sulfeto produzido na redução de sulfato é consumido na formação de sulfetos metálicos sólidos. A demanda pelo sulfeto pode ter provocado um deslocamento no equilíbrio químico da reação de redução do sulfato em direção a formação de produtos.

Além deste fator, com a maior redução do sulfato, a utilização do doador de elétron (etanol) pelo sistema de sulfetogênese é maior, ajudando a reduzir a competição de outros grupos bacterianos pelo substrato.



sendo M^{2+} metais como o Zn^{2+} , Cu^{2+} e Fe^{2+} .

Supondo-se que a redução de sulfato ocorreu pela via completa nas fases IV a VI, pode-se estimar através da estequiometria da equação 5.2 que o percentual de matéria orgânica destinado a sulfetogênese aumentou, sendo 37,8% na Fase I, 40,8% na Fase II e 54,8% na Fase III, o que reforça que houve um aumento da utilização de etanol pelas bactérias redutoras de sulfato.

Sobre a remoção de sulfato na presença dos metais, Castillo et al. (2012) testaram a tolerância das BRS a presença do zinco variando-se a origem dos inóculos entre a área de mineração e a estação de tratamento de águas residuárias. As populações de BRS resistiram por 42 dias em meio rico em sulfato com 260 mg l^{-1} de zinco com eficiente remoção de sulfato e concentrações de zinco em meio líquido chegando abaixo do limite de detecção. Lu et al. (2011) em um sistema com baixos valores de pH afluente e alta disponibilidade de fonte de carbono, também avaliou a remoção de metais e a tolerância do sistema de redução de sulfato. A redução do sulfato foi insuficiente em pH 1 e obteve melhoras em pH 2, da mesma forma a remoção de zinco não ocorria em pH 1 e foi de 85% em pH 2 e 98% para Cu.

A Tabela 5.3 mostra os valores mínimos, máximos e médios de remoção dos metais e a média do pH analisado ao final de cada ciclo da Etapa 2 do presente trabalho.

Tabela 5.3 - Remoção em porcentagem de metais ocorridas no ASBR e pH final referentes a Etapa 2.

	Fe		Zn		Cu		pH final
	Mín-Máx	Média	Mín-Máx	Média	Mín-Máx	Média	Média
IV	85,6-98,8	92,3±2,2	-	-	-	-	6,3±0,1
V	78,6-93,4	88,1±4,1	90,9-92,9	91,9±2,1	-	-	6,3±0,1
VI	78-88,3	83,1±2,6	98,4-100	99,2±1,5	100	100±2	6,5±0,1

Fonte: Da autora.

Houve extensa remoção de todos os metais adicionados, especialmente de zinco e cobre que são maiores que 92% enquanto a remoção de ferro fica entre 83 e 92%. A remoção de ferro sofreu influência direta da presença de outros metais. Na fase IV, quando apenas ferro foi adicionado, a remoção média foi de 92,3±2,2, entretanto, com a adição de zinco na fase V, teve seu valor médio reduzido para 88,1±4,1 e posteriormente para 83,1±2,6 quando da adição de zinco e cobre na fase VI. A menor remoção de ferro obtida pode ser explicada pela sua concentração média no reator ser bem mais elevada do que a dos demais metais em solução e em função da sua maior constante de solubilidade. A constante de solubilidade do FeS é $4,0 \cdot 10^{-19}$, do ZnS é $1,2 \cdot 10^{-23}$, e do CuS é $8,0 \cdot 10^{-37}$ (25°C) (MARTINS, 2010).

Sahinkaya et al. (2011) também obtiveram um efluente com maiores concentrações de ferro dissolvido relativo aos outros metais, o que pode ter sido conferido por uma maior solubilidade do FeS. Cirik et al. (2013) e Sahinkaya et al. (2013) estudaram a redução do sulfato e a precipitação de metais em reatores descontínuos e reatores de leito fluidizado respectivamente, ambos utilizando DAM sintética. No primeiro sistema, o pH passou de 4 para 8 e a remoção de cromo por precipitação do sulfeto metálico foi de 100%. No segundo sistema, foi relatada uma remoção de ferro maior que 90% e um pH final entre 7 e 8.

Xingyu et al. (2013) operaram um reator UASB sulfetogênico com DAM sintética com baixo pH afluente e obtiveram remoções de sulfato próximas a

60% e precipitação de ferro e cobre de 98 e 61% respectivamente. Com diminuição do pH inicial, a concentração de ferro no efluente aumenta consideravelmente, de 10 para 160 mg l⁻¹. O autor ressalta que a maior remoção de ferro frente aos outros metais pode ser resultado também de fenômenos de adsorção, além da remoção biológica por precipitação com sulfeto.

Jong e Parry (2003) que também avaliaram a remoção de ferro em um reator UASB alimentado com lactato, sulfato e metais, sugeriram que a remoção de ferro foi associada à formação de FeS.

Johnson et al. (2006) e Kimura et al. (2006) já haviam descrito a recuperação seletiva de Zn a partir de uma solução de Zn e Fe usando sulfeto biogênico em um sistema chamado por eles de “on-line”, onde os metais são separados dentro de um mesmo biorreator. Jameson et al. (2010) demonstram que é possível precipitar seletivamente e recuperar o cobre a partir da solubilidade dos metais em determinados pH e temperaturas, operando um bioreator sulfetogênico de fluxo contínuo em pH 3 a 30°C controlados pela adição de HCl e banho circulante respectivamente. O cobre foi precipitado dentro do reator enquanto o zinco permaneceu em solução. Com a taxa de fluxo acima de 72 ml h⁻¹ esta seleção é comprometida por causar um escoamento de parte do cobre ainda solubilizado.

5.3 Análise cinética das Etapas 1 e 2

Após a estabilização (repetição nos valores de remoção em três análises subsequentes) das remoções de DQO e sulfato em todas as fases de operação do reator em batelada, foram realizados perfis temporais para acompanhamento das remoções de DQO e sulfato, além da remoção de ferro nas Fases IV-VI.

A Figura 5.5 mostra os dados obtidos em relação à remoção de sulfato nas fases referente a Etapa 2 de operação do reator. O ajuste cinético dos perfis temporais considerou ausência de fase lag, já que neste período o sistema já esta adaptado. O ajuste cinético considera também uma cinética de consumo de sulfato de ordem 1, de acordo com as equações descritas no item 4.4. A constante cinética, bem como os demais parâmetros obtidos nos perfis temporais de remoção de sulfato estão explicitados na Tabela 5.4.

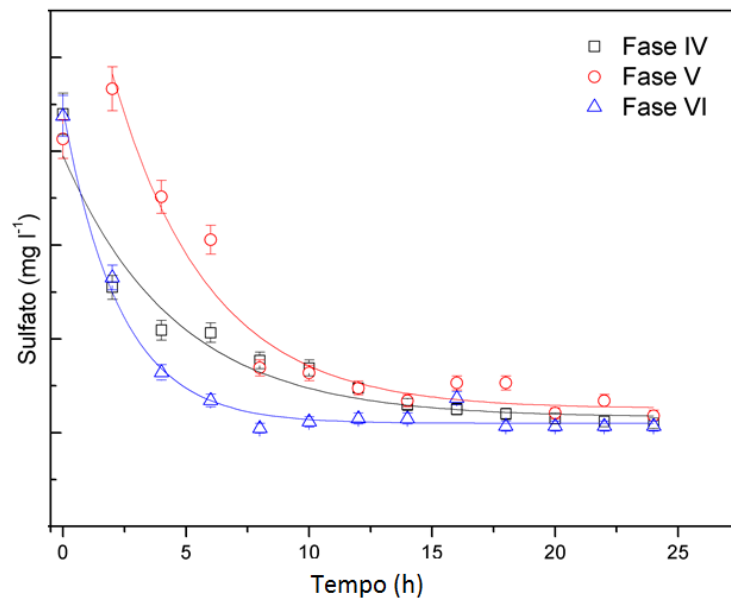


Figura 5.5 - Perfil temporal da remoção de sulfato na Etapa 1 e na Etapa 2.
Fonte: Da autora.

O ajuste cinético dos dados obtidos indicou que o parâmetro cinético k variou de acordo com os distintos valores de remoção de sulfato. Na fase I, o ajuste cinético de ordem 1 não representou bem o comportamento do reator, sendo que o valor do k foi o menor entre todas as fases estudadas e o erro associado foi muito elevado perante o valor obtido $0,14 \pm 0,15 \text{ h}^{-1}$. Isso reflete a instabilidade observada nessa fase da operação, que foi muito mais uma fase de adaptação do inóculo metanogênico às condições de sulfetogênese.

Tabela 5.4. Parâmetros cinéticos das fases de operação do reator em batelada.

Fase	$S_0 \pm \sigma$ (mg l ⁻¹)		$S_f \pm \sigma$ (mg l ⁻¹)		$k \pm \sigma$ (h ⁻¹)	
IV	396	26	116,3	8,0	0,22	0,04
V	479	46	110	22	0,26	0,04
VI	448	20	109,8	3,6	0,44	0,04

Fonte: Da autora.

A partir da fase II, o parâmetro k aumenta consideravelmente, sendo que pelos valores obtidos com seus erros associados não é possível afirmar que existe uma diferença em relação à cinética das fases de II a V. Somente na fase VI, há uma diferença no valor obtido, sendo este foi o maior entre todas as fases analisadas. De qualquer forma, para essas fases analisadas, o ajuste cinético de ordem 1 representou bem o comportamento dos dados.

A avaliação cinética não foi um indicativo de diferença entre as fases quanto à remoção de sulfato, porém mesmo com velocidades máximas semelhantes, houve um incremento significativo quanto à carga de sulfato removida do reator, observada pela análise das remoções médias de cada fase. O sistema não melhorou em termos de velocidade de remoção, mas mostrou-se robusto e com capacidade de remover uma quantidade maior de sulfato quando as condições estiveram mais favoráveis.

A avaliação do sulfato nesse reator permitiu estabelecer condições favoráveis de operação e mostrou que sistemas sulfetogênicos respondem melhor em baixos pH e na presença de alguns metais. Essa condição é essencial quando se objetiva a utilização de sistemas sulfetogênicos para biorremediação de drenagem ácida de minas.

Ghigliazza et al. (2000), avaliaram a cinética de remoção de propionato e sulfato em condições sulfetogênicas e obtiveram um k de 0,026 h⁻¹ para um sistema alimentado com 1100 mg l⁻¹ de sulfato.

Moosa et al. (2002; 2005) também realizaram um estudo cinético da remoção de sulfato em diferentes temperaturas (20, 25, 30 e 35° C) e diferentes concentrações iniciais de sulfato (1,0; 2,5; 5,0 e 10 g l⁻¹) em sistemas em batelada alimentados com acetato como doador de elétrons. Os autores relataram dependência da constante cinética quanto à concentração

inicial de sulfato, que variou de $0,007 \text{ h}^{-1}$ a $0,17 \text{ h}^{-1}$, proporcionalmente ao aumento da concentração de sulfato e também observaram que a 30° C , a constante cinética foi de $0,011 \text{ h}^{-1}$ quando a concentração inicial de sulfato foi de 5 g l^{-1} .

Oyekola et al. (2010) também fizeram uma avaliação da influência da concentração inicial de sulfato sobre a constante cinética em sistemas em batelada alimentados com lactato. Os autores determinaram valores de $0,041 \text{ h}^{-1}$ a $0,06 \text{ h}^{-1}$ quando se aumentou a concentração de sulfato de 1 g l^{-1} para $2,5$ ou $5,0 \text{ g l}^{-1}$.

A constante cinética obtida nas fases de II a VI deste trabalho foi muito maior do que as constantes relatadas pela literatura, como consta na Tabela 5.5. O principal fator que pode ter grande influência nessa comparação é a concentração inicial de sulfato, que neste trabalho foi de $0,5 \text{ g l}^{-1}$, inferior às utilizadas pela literatura. Além disso, o doador de elétrons também foi distinto, o que interfere diretamente nessa comparação. O etanol, ao lado do lactato, constitui-se um dos substratos preferenciais das bactérias redutoras de sulfato. Isso também poderia impactar positivamente sobre a cinética de consumo de sulfato.

Tabela 5.5 - Parâmetros cinéticos comparados aos relatados na literatura com suas respectivas características de meio utilizadas.

Publicação	Sulfato (g l^{-1})	Doador de elétron	k (h^{-1})
Ghigliazza et al. (2000)	1,1	propionato	0,026
Moosa et al. (2005)	1	acetato	0,007
Ouekola et al. (2010)	1	lactato	0,041
Fase VI do presente trabalho	0,5	etanol	0,44

Fonte: Da autora.

Cabe destacar que todos os trabalhos de ajuste cinético relatados operaram em pH neutro e sem adição de metais, duas condições ambientais importantes que favoreceram os resultados do presente trabalho.

Por outro lado, as constantes cinéticas aparentes calculadas para o presente trabalho concordam com Mockaitis (2010). O autor realizou uma avaliação cinética de um reator sulfetogênico em pH neutro submetidos a diferentes condições de relação $\text{DQO}/\text{SO}_4^{-2}$ e presença de cobre.

Inicialmente, o reator anaeróbio de leito estruturado foi operado sem a presença de cobre contendo no afluente $711 \pm 52 \text{ mg SO}_4^{2-} \text{ l}^{-1}$ e, posteriormente, $149 \pm 16 \text{ mg SO}_4^{2-} \text{ l}^{-1}$. Nessas duas condições estudadas as constantes cinéticas aparentes obtidas foram $0,12 \pm 0,04 \text{ h}^{-1}$ e $0,16 \pm 0,02 \text{ h}^{-1}$. Em um segundo momento, o reator foi alimentado com $36,5 \pm 4,0 \text{ mg Cu}^{2+} \text{ l}^{-1}$, em duas concentrações iniciais de sulfato: $673 \pm 66 \text{ mg l}^{-1}$ e $220 \pm 32 \text{ mg l}^{-1}$. Para a maior concentração de sulfato, o k obtido foi de $0,43 \pm 0,05 \text{ h}^{-1}$ e de $0,51 \pm 0,21 \text{ h}^{-1}$ para a menor concentração de sulfato inicial. O autor obtém um incremento significativo nas constantes cinéticas quando na presença de metais. O mesmo não pode ser definido no presente trabalho, entretanto, é possível estabelecer uma excelente relação em termos de valores médios obtidos.

Uma observação adicional foi em relação à remoção de DQO nos perfis realizados. A matéria orgânica foi totalmente consumida em 12h na fase I, em aproximadamente 8h nas fases II e III e em 4h nas fases de IV a VI. Essa maior velocidade de consumo da DQO pode ser atribuída à própria adaptação da biomassa no reator, que ao encontrar as melhores condições de crescimento e manutenção, tornou-se mais eficiente na utilização do doador de elétrons.

Essa diminuição no tempo de consumo de DQO relaciona-se qualitativamente à remoção do sulfato ao se observar a Figura 5.5. Nas fases II e III, a remoção de sulfato parece estabilizar-se antes do consumo total da DQO (com cerca de 6h) enquanto nas fases de IV a VI, essa estabilização do sulfato também ocorre em 6h, ou seja, ligeiramente após a estagnação do doador de elétrons. Nas fases II e III, acredita-se que a competição pelo doador de elétrons por outros grupos microbianos era maior e, portanto, mesmo sem remoção de sulfato poderia ainda ocorrer remoção de DQO. Posteriormente, nas fases IV a VI, essa competição parece ter diminuído quando se considera a melhora na remoção de sulfato. Dessa forma, o que pode ter ocorrido é que a DQO em solução tenha se estagnado antes da estabilização do sulfato, mas que nesse período os intermediários metabólicos da matéria orgânica já estivessem incorporados

intracelularmente e, portanto, não seriam mais detectados pela metodologia empregada.

A análise cinética também foi realizada para o consumo do ferro em solução e está apresentada na Figura 5.6. O modelo considerado, assim como para o sulfato, foi de ordem 1. Os parâmetros obtidos encontram-se na Tabela 5.6.

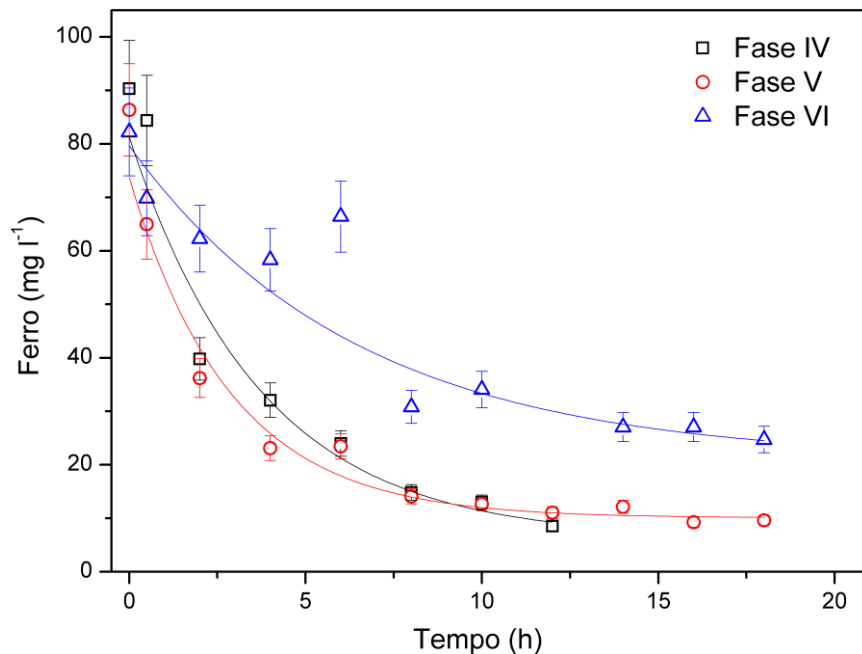


Figura 5.6 – Cinética de precipitação. Perfil temporal da remoção de Ferro- Etapa 2. Fonte: Da autora.

Tabela 5.6 - Parâmetros cinéticos da precipitação de Ferro na Etapa 2 da operação do reator em batelada.

Fase	$S_0 \pm \sigma$ (mg l ⁻¹)	$S_f \pm \sigma$ (mg l ⁻¹)	$k \pm \sigma$ (h ⁻¹)	$v_{\max} \pm \sigma$ (mg l ⁻¹ h ⁻¹)
IV	81,3	9,8	6,27	2,8
V	73,7	7,5	10,1	0,8
VI	79,7	8,5	20,9	6,2

Fonte: Da autora.

Os parâmetros cinéticos de precipitação obtidos indicaram que a concentração final de ferro em solução cresceu ao longo das fases IV a VI, em resposta a uma diminuição nas remoções observadas. O valor do k , entretanto, não foi diferente entre as fases IV e V, quando considerado o erro

associado, sendo menor na fase VI, quando foi observada a menor remoção de ferro entre as fases analisadas. Nessa fase, a precipitação do ferro pelo sulfeto concorria com a presença de zinco e cobre, que forma sulfetos metálicos mais insolúveis que o sulfeto de ferro.

6 CONCLUSÕES

As conclusões do presente trabalho acerca da influência do pH inicial e da presença de metais sobre a eficiência do ASBR em tratar DAM removendo sulfato, precipitando metais e gerando alcalinidade são apresentadas a seguir.

- A remoção de sulfato foi favorecida pelo decaimento do pH a partir de um período de adaptação do consórcio microbiano e cresceu de 38,5% para 52,2% quando pH caiu de 6 para 4.
- A adição de ferro favoreceu a remoção de sulfato em pH 4,0 que aumentou para 56,7%, bem como a adição de zinco e cobre que levaram a remoções de sulfato de 61,2% e 82,2%, respectivamente;
- A remoção de ferro foi menor com a adição dos metais zinco e cobre e apresentou valores máximos de remoção de 92,3% quando somente ferro estava presente, 88,1% quando ferro e zinco estavam presentes e 83,1% quando os três metais estavam presentes no afluente;
- As remoções de zinco e cobre foram próximas a 100% e estiveram relacionadas à sua menor concentração no afluente e baixo coeficiente de solubilidade;
- O ajuste cinético de ordem 1 para a remoção de sulfato mostrou-se representativo para as fases II a VI de operação do reator, entretanto as constantes obtidas não puderam ser diretamente relacionadas com os resultados de remoção de sulfato;
- A avaliação cinética da remoção de ferro considerando-se ajuste de ordem 1 indicou que na fase VI, a presença de zinco e cobre influenciou negativamente sobre a velocidade de precipitação de ferro, resultando em uma menor constante cinética obtida ($0,156 \text{ h}^{-1}$);
- O ASBR mostrou-se um bom modelo de reator para o tratamento de DAM;
- Houve geração de alcalinidade em todas as variáveis estudadas. Independente do pH inicial ou da presença de metais, o pH chega a valores entre 5,8 e 6,96.

REFERÊNCIAS

- AKCIL, A., KOLDAS, S. Acid mine drainage (AMD): causes, treatment and case studies. **Journal of Cleaner Production**, v. 14, p. 1139-1145, 2006.
- ALAZARD, D. et al. Desulfosporosinus acidiphilus sp. nov.: a moderately acidophilic sulfate-reducing bacterium isolated from acid mining drainage sediments. **Extremophiles**, v. 14, p. 305-312, 2010.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION, WATER ENVIRONMENT FEDERATION. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22. ed. Washington, D.C., 2012.
- BAI, H. et al. Treatment of acid mine drainage by sulfate reducing bacteria with iron in bench scale runs. **Bioresource Technology**, v. 128, p. 818–822, 2013.
- BAKER, B.J.; BANFIELD, J.F. Microbial communities in acid mine drainage. **FEMS Microbiology**, v. 44, p. 139-152, 2003.
- BEHUM, P. T. et al. Remediation of coal-mine drainage by a sulfate-reducing bioreactor: A case study from the Illinois coal basin, USA. **Applied Geochemistry**, v. 26, p. S162–S166, 2011.
- BIGHAM, J. M.; NORDSTROM, D. K. **Iron and aluminum hydroxysulfates from acid sulfate waters**. In: Alpers CN, Jambor JL, Nordstrom DK, editors. Sulfate minerals: crystallography geochemistry and environmental significance. Virginia: Reviews in Mineralogy and Geochemistry, Mineralogical Society of America, Chantilly; 2000.
- BRASIL. Resolução CONAMA nº357 de 17 de março de 2005 do Ministério do Meio Ambiente. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, padrão de potabilidade de água para consumo humano e dá outras providências. 2005.
- CASTILLO, J. et al. Biologically-induced precipitation of sphalerite–wurtzite nanoparticles by sulfate-reducing bacteria: Implications for acid mine drainage treatment. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 423 p. 176–184, 2012.
- CIRIK, K. et al. Effect of electron donor source on the treatment of Cr(VI)-containing textile wastewater using sulfate-reducing fluidized bed reactors (FBRs). **Bioresource Technology**, v. 133, p. 414–420, 2013.

CORTINA, J. L. et al. Passive in situ remediation of metalpolluted water with caustic magnesia: evidence from column experiments. **Environ Sci Technol**, v. 37 p. 1971-7, 2003.

DAGUE, R.R.; HABBEN, C. B.; PIDAPARTI, S. R. Initial studies on the anaerobic sequencing batch reactor. **Water Science and Technology**, v. 26 n. 9-11, p. 2429-2432, 1992.

DENICOLA, D.M., STAPLETON, M.G. Impact of acid mine drainage on benthic communities in streams: the relative roles of substratum vs. aqueous effects. **Environmental Pollution**, 119, p. 303-315, 2002.

DOLLA, A.; FURNIER, M.; DERMOUN, Z. Oxygen defense in sulfate-reducing bacteria. **Journal of Biotechnology**, v. 126, p. 87-100, 2006.

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

GRAY, N.F. Environmental impact and remediation of acid mine drainage: a management problem. **Environmental Geology**, 27, p. 358-361, 1997.

HANSEN, T.A. Metabolism of sulphate-reducing prokaryotes. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 66, p. 165-185, 1994.

HAO, O.J. Metal effects on sulfur cycle bacteria and metal removal by sulfate reducing bacteria. **Environmental Technologies to Treat Sulfur Pollution: Principles and Engineering**, IWA Publishing, London, p. 393-414, 2000.

HARADA, H.; VERMURA, S.; MOMONOI, K. Interaction between sulphate reducing bacteria and methane producing bacteria in a UASB reactor fed with low strength wastes containing different levels of sulphate. **Water Research**, v. 28, n. 2, p. 355-367, 1994.

HIIBEL, S.R. et al. Effect of organic substrate on the microbial community structure in pilot-scale sulfate-reducing biochemical reactors treating mine drainage. **Environmental Engineering And Science**, v. 28 p. 563-572, 2011.

HIRASAWA, J. S. et al. Application of molecular techniques to evaluate the methanogenic archaea and anaerobic bacteria in the presence of oxygen with different COD: Sulfate ratios in a UASB reactor. **Anaerobe**, v. 14, p. 209-218, 2008.

HOUTEN, V. R. T.; POL, L. W. H.; LETTINGA, G. Biological sulphate reduction using gas-lift reactors fed with hydrogen and carbon dioxide as

energy and carbon source. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 44, p. 586-594, 1994.

JAMESON, E. et al. Sulfidogenesis and selective precipitation of metals at low pH mediated by *Acidithiobacillus* spp. and acidophilic sulfate-reducing bacteria. **Hydrometallurgy**, v. 104, p. 488–493, 2010.

JIMÉNEZ-RODRÍGUEZ, A.M. et al. Heavy metals removal from acid mine drainage water using biogenic hydrogen sulphide and effluente anaerobic treatment: Effect of pH. **Journal of Hazardous Materials**, v. 165, p. 759-765, 2009.

JOHNSON, D. B. et al. Sulfidogenesis at low pH by acidophilic bacteria and its potential for the selective recovery of transition metals from mine waters. **Advanced Materials Research**, v. 71, p. 693-696, 2009.

JOHNSON, D.B. et al. A novel biosulfidogenic system for the selective recovery of metals from acidic leach liquors and waste streams. **Min. Process. Extract. Metall**, v. 115, p. 19–24, 2006.

JONG, T.; PARRY, D.L. Removal of sulfate and heavy metals by sulfate reducing bacteria in short-term bench scale upflow anaerobic packed bed reactor runs. **Water Research**, v. 37, n. 14, p. 3379-89, 2003.

KAKSONEN, A.H. et al. Laboratory cultivation of widespread and previously uncultured soil bacteria. **Applied Environmental Microbiology**, v. 69, p. 7210-7215, 2004.

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

KIMURA, S.; HALLBERG, K.B.; JOHNSON, D.B. Sulfidogenesis in low pH (3.8–4.2) media by a mixed population of acidophilic bacteria. **Biodegradation**, v.17, p. 57–65, 2006.

LADEIRA A. C. Q., GONÇALVES C. R., Influence of anionic species on uranium separation from acid mine water using strong base resins. **Hazardous Materials**, v. 148, p. 499-504, 2007.

LENS, P.N.L. et al. Biotechnological treatment of sulfate-rich wastewaters. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 28, n.1, p. 41-88, 1998.

LIU, J. et al. Effect of reactive bed mineralogy on arsenic retention and permeability of synthetic arsenic-containing acid mine drainage. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 394, p. 530-538, 2013.

LU, J. et al. Acid tolerance of an acid mine drainage bioremediation system based on biological sulfate reduction. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 10401–10406, 2011.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J.M.; PARKER, J. **Brock biology of Microorganisms**. 10. ed. San Francisco: Prentice Hall, 2002.

MARTINS, C. R.; SILVA, L. A.; ANDRADE, J. B. Porque nem todos os sulfetos são insolúveis? **Química Nova**, v. 33, n. 10, 2010.

MARTINS, M. et al. Performance and bacterial community shifts during bioremediation of acid mine drainage from two Portuguese mines. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 65, p. 972-981, 2011.

MEIER, J.; PIVA, A.; FORTIN, D. Enrichment of sulfate-reducing bacteria and resulting mineral formation in media mimicking pore water metal ion concentrations and pH conditions of acidic pit lakes. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 79, p. 69-84, 2012.

MIZUNO, O.; LI, Y.; NOIKE, T. Effects of sulfate concentration and sludge retention time on the interactions between methane production and sulfate reduction for butyrate. **Water Science and Technology**, v. 30, n.8, p. 45-54, 1994.

MOCKAITIS, G., et al. Influence of feed time and sulfate load on the organic and sulfate removal in an ASBR. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 6642–6650, 2010.

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

MOOSA, S.; NEMATIB, M.; HARRISON, S. T. L. Akinetic study on anaerobic reduction of sulphate, part II: incorporation of temperature effects in the kinetic model. **Chemical Engineering Science**, v. 60, p. 3517 – 3524, 2005.

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

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

NANCUCHEO, I.; JOHNSON, D. B. Removal of sulfate from extremely acidic mine waters using low pH sulfidogenic bioreactors. **Hydrometallurgy**, (2014), doi: 10.1016/j.hydromet.2014.04.025

OMIL, F. et al. Effect of upward velocity and sulphide concentration on fatty acid degradation in a sulphidogenic granular sludge reactor. **Process Biochemistry**, v. 31, p. 699-710, 1996.

OYEKOLA, O. O.; ROBERT, P. H.; HARRISON, S. T. L. Kinetic analysis of biological sulphate reduction using lactate as a carbon source and electron donor: Effect of sulphate concentration. **Chemical Engineering Science**, v. 65, p. 4771-4781, 2010.

RIBEIRO, R. et al. Influence of the carbon source on the anaerobic biomass adhesion on polyurethane foam matrices. **Journal of Environmental Management**, v. 74, p. 187-194, 2005.

RODRIGUEZ, R. P. **Aplicação de reatores anaeróbios para remoção de sulfato de águas de drenagem ácida de minas**. 2010. 176f. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola de Engenharia de São Carlos, USP, São Carlos, 2010.

SAHINKAYA, E. et al. Use of landfill leachate as a carbon source in a sulfidogenic fluidized-bed reactor for the treatment of synthetic acid mine drainage. **Minerals Engineering**, v. 48, p. 56-60, 2013.

SAHINKAYA, E. et al. Sulfidogenic fluidized bed treatment of real acid mine drainage water. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 683-689, 2011.

SÁNCHEZ, A. I. et al. Enrichment and isolation of acidophilic sulfate-reducing bacteria from Tinto River sediments. **Journal of Hazardous Materials**, Rep. p. 1758-2229, 2013.

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

SILVA, A. J. **Biodessulfatação com posterior oxidação parcial do sulfeto em reatores operados em bateladas sequenciais**. 2005. 159 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) - Escola de Engenharia de São Carlos, USP, São Carlos, 2005.

SMUL, A. de; J. GROOTAERD, D. L. G. H.; VERSTRAETE, W. High rates of microbial sulphate reduction in a mesophilic ethanol-fed expanded-granular-sludge-blanket reactor. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 48, p. 297-303, 1997.

SPEECE, R.E. **Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewaters**. Nashville, Tennessee - United States: Archae Press, p. 394, 1996.

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

XINGYU, L. et al. A novel low pH sulfidogenic bioreactor using activated sludge as carbon source to treat acid mine drainage (AMD) and recovery metal sulfides: Pilot scale study. **Minerals Engineering**, v. 48, p. 51-55, 2013.

ZAIAT, M.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUZNEI, S. M. Anaerobic sequencing batch reactors for wastewater treatment: a developing technology. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 55, p. 29-35, 2001.