

# USO DO GLICEROL COMO FONTE DE CARBONO NAS ROTAS METABÓLICAS METANOGÊNICA E SULFETOGÊNICA EM REATORES EM BATELADA

**Fernanda Oliveira de Mesquita<sup>(1)</sup>**

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

**Bruno Rocha Rodrigues 2**

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

**Sueli Moura Bertolino 3**

Graduada em Bacharel e Licenciatura em Química na Universidade Federal de Viçosa (UFV). Mestre em Engenharia Ambiental na Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP). Doutora em Engenharia de Materiais, sub-área Bio & Hidrometalurgia pela Rede Temática em Engenharia dos Materiais na Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP).

## RESUMO

A utilização e o aprimoramento de processos biotecnológicos no tratamento de águas residuárias têm intensificado o interesse de empresários e pesquisadores relacionados com atividades industriais, produtoras de resíduos contaminantes de corpos d'água. Na indústria minero-metalúrgica os principais contaminantes encontrados nestes são metais pesados e ânions como sulfato e cloreto. Enquanto, na produção do biodiesel são gerados uma significativa quantidade de resíduo, o glicerol bruto, que deve ser direcionado para reuso ou receber correto tratamento. Contribuindo para os estudos sobre o assunto, este trabalho teve como objetivo utilizar o glicerol como fonte de carbono para bactérias redutoras de sulfato e arqueas metanogênicas. Foram realizados ensaios em reatores em batelada utilizando o lodo de um UASB provindo de uma estação de tratamento de esgoto doméstico de, para verificar a eficiência de remoção de sulfato das bactérias sulfetogênicas (BRS) e a remoção da DQO pela atividade das *arqueas* metanogênicas, após passarem por um período de adaptação. Nos ensaios em batelada, os meios foram preparados com glicerol puro, glicerol bruto derivado de óleo residual e outro derivado de gordura suína, como substrato para o crescimento dos micro-organismos. As remoções médias de sulfato encontradas para as BRS foram de 10,72%, 33,66% e 17,59%, para os respectivos três meios. As *arqueas* metanogênicas apresentaram remoções médias de DQO, para os respectivos meios, de 57,43%, 70,51% e 14,14%. Os resultados encontrados mostraram uma baixa remoção de sulfato nos três tratamentos e uma remoção satisfatória de DQO no reator metanogênico.

**PALAVRAS-CHAVE:** redução de sulfato, bactérias redutoras de sulfato (BRS), substrato orgânico.

## INTRODUÇÃO

Com a crescente preocupação em diminuir os impactos causados pelo lançamento de efluentes industriais nos corpos de água, torna-se necessária a busca por diferentes tecnologias de tratamento economicamente viáveis.

O sulfato é encontrado em elevados teores em efluentes líquidos devido ao uso do ácido sulfúrico, um reagente barato e estável, em processos industriais, tais como indústria hidrometalúrgica, na produção de cobre e de níquel, em linhas de galvanização de aços, na produção de ácido fosfórico, para remoção ácida de impurezas, entre outras. A presença de altas concentrações de sulfato causa impactos, pois na redução de sulfato pelo processo anaeróbico, o sulfeto é produzido, podendo alterar a classificação e a potabilidade da água, devido a sua toxicidade (MEDÍRCIO, 2004).

Segundo a Deliberação Normativa COPAM nº 01/2008 do estado de Minas Gerais para as Classes 1, 2 e 3 de corpos d'água, a concentração máxima de sulfato permitida é de 250 mg.L<sup>-1</sup>, por isso, para se adequar a concentração máxima permitida pela legislação vigente, o tratamento destes efluentes industriais é de vital importância (BRASIL, 2008). Além de benefícios para a indústria, como possibilidade de reuso da água, a descontaminação de efluentes é essencial para a manutenção da qualidade do corpo d'água em que esses efluentes serão lançados, para a manutenção de ecossistemas aquáticos e para possível uso pela comunidade, que utiliza a água para diversos usos, até mesmo consumo.

A remoção biológica de sulfato é uma alternativa mais eficiente e econômica quando comparada às outras tecnologias de tratamento do sulfato como precipitação química, troca iônica e utilização de membranas (KAKSONEN; FRANZMANN; PUHAKKA, 2003; RIZZO; LEITE, 2004). Na biorredução do sulfato são utilizadas bactérias redutoras de sulfato (BRS), que utilizam o sulfato como aceptor final de elétrons, convertendo-o a ácido sulfídrico ( $H_2S$ ), a partir de um substrato orgânico com fonte de carbono e elétrons. As BRS reduzem a concentração de sulfato nos efluentes industriais, que podem assim ser descartados adequadamente e/ou reutilizados na indústria.

Contudo a inexistência de matéria orgânica na constituição natural nos efluentes industriais dificulta esse tipo de tratamento. Em virtude desta barreira, o estudo de substratos eficientes como fonte externa de carbono e elétrons faz-se necessária. Por meio de ensaios em batelada o desempenho da redução do sulfato pode ser avaliado com diferentes substratos orgânicos alternativos provenientes de resíduos industriais como o glicerol bruto, subproduto da produção do biodiesel e biomassa de milho.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A utilização e o aprimoramento de processos biotecnológicos no tratamento de efluentes industriais têm intensificado o interesse de empresários e pesquisadores relacionados com atividades de mineração e metalurgia. Os principais contaminantes encontrados nestes efluentes são metais pesados e ânions como sulfato e cloreto (GUEDES, 2011).

Pelo fato de ainda não existir dados que permitam afirmar qual o nível de sulfato capaz de causar efeitos adversos ao ser humano, valores limite para ingestão desse íon devem ser estabelecidos. Sabe-se que pessoas adultas que consomem água potável contendo sulfato em concentrações superiores a  $600 \text{ mg.L}^{-1}$  podem apresentar quadro de perturbações no trato intestinal (WHO, 2011). Em função disto, a Portaria 2.914 do Ministério da Saúde é mais restritiva e limita a concentração de sulfato em  $250 \text{ mg.L}^{-1}$ , levando em consideração o padrão organoléptico da água.

A limitação da concentração de sulfato em efluentes não é estabelecida na legislação nacional, que é regida pela Resolução 430/2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), porém tanto a legislação nacional quanto a estadual, através da Resolução CONAMA nº357/2005 e da Deliberação Normativa COPAM nº 01/2008 do estado de Minas Gerais, limita o sulfato total em  $250 \text{ mg.L}^{-1}$ , nos corpos de água classes 1, 2 e 3. Efluentes só poderão ser lançados diretamente nos corpos d'água se, com o lançamento, o corpo hídrico não ultrapassar os parâmetros estabelecidos por tais legislações, caso contrário, o efluente deverá ser submetido a um tratamento prévio.

Os processos que normalmente são utilizados para a remoção de sulfato e metais em efluentes são o tratamento físico-químico através de coagulantes, precipitação química, a troca iônica, a redução química a separação por membranas, porém esses processos podem apresentar algumas dificuldades para serem aplicados e também algumas restrições como, a maioria desses processos só removem um tipo de metal por tratamento, ou um grupo restrito de metais, muitas vezes não incluindo o sulfato, ou deixando uma concentração residual ainda elevada (RIZZO; LEITE, 2004).

O tratamento através de precipitação química pode ser feito com a utilização de sais de bário e chumbo, porém tais processos ainda não são considerados economicamente atraentes, mas são uma alternativa eficiente, principalmente se aplicada ao tratamento de efluentes com alto teor de sulfato. Neste caso, os custos para separação e disposição apropriada dos grandes volumes de lodo gerado, bem como a toxicidade dos resíduos, deverão ser observados (NUNES; SOARES; RUBIO, 2004).

Os métodos biológicos de tratamento, que utilizam bactérias redutoras de sulfato (BRS) têm se apresentado como alternativas aos tratamentos clássicos empregados, sendo eficaz e economicamente viável para a remoção de sulfato, precipitação de metais, entre outros. Os processos biológicos além de apresentarem custos mais baixos que os demais, aliam alta eficiência de remoção com a sensibilidade que normalmente apresentam, gerando soluções de qualidade, adequadas para o descarte (COSTA, 2012; RIZZO; LEITE, 2004).

Dentre os micro-organismos presentes nesses processos, as bactérias se destacam por sua ampla diversidade, tolerando variadas condições ambientais, tais como temperatura, concentração de substrato e pH. Por isso, o

interesse em utilizar micro-organismos em processos de tratamento de águas residuárias de origem industrial e residencial (CHERNICHARO, 2007).

No caso das bactérias redutoras de sulfato (BRS), as características que merecem ser destacadas são o fato de serem um grupo versátil de micro-organismos, pois crescem em ampla faixa de pH, entre 3,0 e 9,0, serem na sua maioria mesófilas, ou seja, a temperatura ideal de crescimento é de 20°C a 40°C, utilizarem diferentes tipos de substratos, incluindo toda a cadeia de ácidos graxos voláteis, diversos ácidos aromáticos, hidrogênio, metanol, etanol, glicerol, açúcares, aminoácidos e vários compostos e apesar de serem anaeróbias, apresentarem tolerância ao oxigênio (LENS *et al.*, 2002; CHERNICHARO, 2007).

O processo realizado pelas BRS pode ser representado pelas equações químicas 1, 2 e 3 (CAO *et al.*, 2008). Na Equação 1 temos a utilização de um substrato orgânico como doador de elétrons para o íon sulfato que é então reduzido a forma de sulfeto. Se no ambiente houver disponível hidrogênio (H<sub>2</sub>), como representado pela equação 2, este será utilizado como doador de elétrons. Analogamente, temos a redução de sulfato a sulfeto. O sulfeto produzido a partir da redução do sulfato reage com os metais (quando presentes no meio) formando um precipitado insolúvel (Equação 3).

Equação 1

Equação 2

Equação 3

Sarti, et al (2008) avaliaram o potencial do uso do reator anaeróbio para tratar altas concentrações de sulfato em águas residuárias industriais em bateladas sequenciais, escala piloto. O experimento utilizou carvão mineral como suporte para crescimento da biomassa, O reator, com volume total de 1,2 m<sup>3</sup>, foi preenchido com carvão mineral como meio suporte para imobilização da biomassa e etanol como doador de elétrons para redução do sulfato. O reator foi operado à temperatura ambiente (29±8°C), tendo sido obtidas eficiências médias na redução de sulfato entre 88 e 92% em 92 ciclos (275 dias). Os resultados obtidos permitiram concluir que o uso do tratamento biológico é uma alternativa eficiente para a remoção de sulfatos de águas residuárias.

Na busca por um substrato economicamente viável para alimentar o processo biológico de redução de sulfato vários estudos já foram conduzidos. Citar os diferentes substratos alternativos estudados.

Segundo Dinkel e colaboradores (2010), o glicerol é uma boa alternativa para ser utilizado como substrato em processos biológicos, pois é relativamente barato e bastante disponível e ser subproduto de vários segmentos da indústria e pelo fato de que as BRS são capazes de utilizar essa substância como substrato.

Glicerol é o nome usual do composto orgânico 1, 2, 3- propanotriol, e também pode ser encontrado com a nomenclatura de glicerina, trihidroxipropano, glicil álcool, gliceril e 1,2,3 trihidroxipropano (OECD-SIDS, 2002). A glicerina é um produto essencial para o metabolismo de micro-organismos, sendo fundamental para a produção de diversos metabólitos, e como regulador de vários mecanismos bioquímicos intracelulares (CHAVEZ, 2008 *apud* BRISSON *et al.*; 2001).

A demanda de glicerol, principalmente na sua forma bruta está em constante crescimento por consequência do desenvolvimento da indústria de biocombustíveis, particularmente de biodiesel e, por isso, é necessário o estudo de novas formas para o uso deste resíduo. A alta energia contida no glicerol faz com que seja um interessante substrato para a digestão anaeróbia (KOLESÁROVÁ *et al.*, 2011).

Além da possibilidade de uso do glicerol bruto como fonte de carbono e elétrons para as bactérias redutoras de sulfato, outras demandas são necessárias para dispor e/ou tratar o glicerol bruto que é produzido pela indústria do biodiesel. Uma alternativa é a produção biológica de metano através da digestão anaeróbia do glicerol.

A digestão anaeróbia, ou fermentação metanogênica, é produzida por grupos de bactérias fermentativas hidrolíticas, bactérias fermentativas acidogênicas, bactérias acetogênicas e pelas *Archaeas* metanogênicas, as quais são as responsáveis pela produção de metano (BARRETO; CAMPOS, 2009). Esse processo oferece diversas vantagens, como a minimização da quantidade de efluentes orgânicos lançados no ambiente e da emissão de gases e seus materiais oriundos da degradação incontrolada e, ainda, a produção de biogás, com teor de metano de 50 a 70%, que pode ser usado como eletricidade, fonte de calor e, também, combustível veicular (LUSTE; LUOSTARINEN; SILLANPAA, 2009).

APRESENTAR A ESQUAÇÕES DA DIGESTÃO ANAERÓBIA

Os micro-organismos metanogênicos são considerados sensíveis ao pH, ou seja, o crescimento ótimo ocorre em faixa relativamente estreita, em torno de 6,5 a 7,5 embora possam conseguir a estabilidade para a formação de metano numa faixa mais ampla de pH, entre 6 e 8 (RIUJI, 2009). Valores abaixo de 6 e acima de 8,3 devem ser evitados, uma vez que estes inibem por completo os micro-organismos formadores de metano (VAN LIER, 1995).

Quanto à temperatura, três grupos distintos de bactérias metanogênicas são identificadas, as bactérias termofílicas que possuem sua faixa de temperatura ótima com valores maiores que 45°C, as bactérias mesofílicas, com faixa entre 20 e 45°C e psicofílicas, com temperaturas menores que 20°C (NOGUEIRA, 1986). A Equação 4 descreve a ação das metanogênicas (COUTO, 2014).

Portanto, este estudo apresenta duas possibilidades para o uso e tratamento do glicerol bruto produzido pela indústria do biodiesel, a redução biológica do sulfato a partir da oxidação do glicerol e a produção de metano pela digestão anaeróbia do glicerol bruto.

## **OBJETIVO**

Verificar a eficiência em ensaio batelada de duas rotas de digestão anaeróbia do glicerol, a sulfetogênica e a metanogênica, pelo uso de diferentes fontes de glicerol.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Qualidade Ambiental (LAQUA) e Laboratório de Microbiologia Ambiental (LAMIC) do Instituto de Ciências Agrárias (ICIAG) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

O inóculo utilizado nos ensaios foi um lodo contendo BRS e arqueas metanogênicas proveniente do sistema da estação de tratamento de esgotos domésticos do município de Uberlândia. O lodo coletado foi adaptado para o experimento de batelada com diferentes substratos.

### **1. PREPARO DO INÓCULO**

O lodo foi coletado na segunda fase do tratamento, em Reatores Anaeróbios de Fluxo Ascendente (RAFA) que tem como finalidade a redução da carga orgânica contida nos esgotos, transformando-a em lodo digerido e biogás, como mostra a Figura 1.



**Figura 1: Canal de passagem de lodo (A); coleta de lodo de inóculo na ETE Uberabinha (B).**

## 2. PREPARO DOS REATORES ESTÁTICOS

Após a coleta, uma alíquota de 500 mL de lodo foi transferida para dois reatores estáticos ambos com o volume útil de 5 L (Figura 2).



**Figura 2: Reator de adaptação para bactérias metanogênicas (A) e bactérias sulfetogênicas (B).**

Na fase de adaptação um reator foi alimentado três vezes por semana com meio específico para atividade metanogênica (Tabela 1 e 2) e o outro para atividade sulfetogênica (Tabela 3), selecionando as comunidades bacterianas de BRS e *Arqueas* para o estudo.

**Tabela 1: Composição do meio de cultura metanogênico para adaptação das bactérias.**

Componente orgânico	DQO (mg.L <sup>-1</sup> )	Composto orgânico	Concentração
Proteína	100	Extrato de carne	0,05 g.L <sup>-1</sup>
Carboidratos	50	Glicose	0,05 g.L <sup>-1</sup>
	50	Amido	0,017 g.L <sup>-1</sup>
Glicerol	250	Glicerol Puro	0,26 mL.L <sup>-1</sup>

**Tabela 2: Preparo da solução estoque de macronutrientes e micronutrientes para adição no meio de cultura metanogênico.**

	Componente	Composição (g.L <sup>-1</sup> )
Macronutrientes	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,024
	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,1
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,01
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>	0,024
	NaCl	1,0
	Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,026
	NiCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,12
Micronutriente	CaCO <sub>3</sub>	12,0

CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O: Cloreto de Cobalto hexahidratado; CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O: Cloreto de Cálcio bihidratado; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>: Ácido Bórico; Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>: Molibdato de sódio; NaCl: Cloreto de Sódio; Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>.5H<sub>2</sub>O: Selenito de Sódio pentahidratado; NiCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O: Cloreto de Níquel hexahidratado; CaCO<sub>3</sub>: Carbonato de Cálcio.

**Tabela 3: Composição do meio de cultura Postgate C para crescimento de BRS.**

Componente	Composição (g.L <sup>-1</sup> )
Substrato (Glicerol)	Em função da razão DQO/SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (2,6 mL)
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,5
NH <sub>4</sub> Cl	1,0
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3,63
MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0,06
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,1
Extrato de levedura	0,25
NaHCO <sub>3</sub>	0,5
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0,5

DQO: Demanda química de oxigênio; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: Fosfato de Potássio Monobásico; NH<sub>4</sub>Cl: Cloreto de Amônio; K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: Sulfato de Potássio; MgSO<sub>4</sub>. 7H<sub>2</sub>O: Sulfato de Magnésio Heptahidratado; FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O: Sulfato Ferroso heptahidratado; NaHCO<sub>3</sub>: Bicarbonato de Sódio; Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>: Carbonato de Sódio.

### 3. ENSAIO SULFETOGÊNICO – ESCALA BATELADA

Após a adaptação das bactérias sulfetogênicas, a avaliação da biorredução do sulfato utilizando glicerol como fonte de carbono e elétrons foi conduzida em sistema batelada, em triplicata. Foram utilizados três substratos, glicerol puro, glicerol bruto derivado de óleo residual e glicerol bruto derivado de gordura suína.

Os cálculos das massas dos substratos foram feitos considerando a DQO de 1 g do glicerol puro. A partir deste resultado pesou-se a massa equivalente do glicerol a 4000 DQO/L, de acordo com a Tabela 4. A concentração do sulfato foi mantida constante no meio de cultura, teoricamente 2,0 g.L<sup>-1</sup>, e a relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> com valor de 2.

**Tabela 4: Tipo e massa de Glicerol usado nos ensaios.**

Ensaio	Tipo de glicerol	Massa (g)
1	Glicerol Puro	2,6
2	Glicerol Bruto derivado de Óleo Residual	2,5
3	Glicerol Bruto derivado de Gordura Suína	1,85

Foram utilizados três frascos âmbar de 500 mL, para as amostras em triplicata (Figura 3). Os frascos de incubação foram limpos e esterilizados com solução sulfocrômica e por luz ultravioleta por 30 minutos.





**Figura 3: Frascos âmbar para ensaios em batelada.**

Uma alíquota de 24 mL do lodo (10% do volume útil do frasco mostrado na Figura 3) do reator mostrado na Figura 2 foi adicionada em cada frasco âmbar. Os frascos âmbar contendo o inóculo permaneceram em repouso por 24 horas antes da adição do meio de cultura, para adaptação da biomassa. Após adicionar o meio específico (Tabela 5) os frascos foram vedados com rolha de borracha e lacrados com fita tipo *Silver-tape*. Os frascos foram mantidos em temperatura de 35°C por 168 horas.

**Tabela 5: Composição do meio de cultura para frascos contendo lodo do reator sulfetogênico.**

Meio	Componente	Composição (g.L <sup>-1</sup> )	Volume final (mL)	Condições de preparo
I	Glicerol	*	1920	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Homogeneização dos componentes com o substrato (concentração calculada)</li> <li>• Autoclavagem a 110° C por 20 min.</li> </ul>
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,5		
	NH <sub>4</sub> Cl	1,0		
	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3,63		
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,06		
	NaHCO <sub>3</sub>	1,0		
	Extrato de levedura	0,25		
II	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,5	40	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Preparo no dia da inoculação.</li> <li>• Esterilização por filtração com membrana 0,22µm.</li> </ul>

\*Massa de acordo com a Tabela 4.

KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: Fosfato de Potássio Monobásico; NH<sub>4</sub>Cl: Cloreto de Amônio; K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: Sulfato de Potássio; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O: Sulfato de Magnésio Heptahidratado; FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O: Sulfato Ferroso heptahidratado; NaHCO<sub>3</sub>: Bicarbonato de Sódio.

Alíquotas de 4 mL foram retiradas diariamente para análise dos seguintes parâmetros: pH (pHmêtro), temperatura (pHmêtro), sulfato (Método turbimétrico) e DQO (Métodos padronizados segundo Standard Methods, 2012).

#### 4. ENSAIO METANOGÊNICO – ESCALA BATELADA

Após a adaptação das *arqueas* metanogênicas, a avaliação da remoção de DQO a partir do glicerol foi conduzida em sistema batelada, em triplicata. Foram utilizados três substratos, glicerol puro, glicerol bruto derivado de óleo residual e glicerol bruto derivado de gordura suína sendo substituídos quando necessário.

Foram utilizados três frascos âmbar de 500 mL limpos (Figura 3) e esterilizados com solução sulfocrômica e em luz ultravioleta por 30 minutos.

Uma alíquota de 24 mL do lodo do reator foi adicionada em cada frasco âmbar. Os frascos âmbar contendo o inóculo permaneceram em repouso por 24 horas antes da adição do meio de cultura, para adaptação da biomassa. Após adicionar o meio específico (Tabela 6) os frascos foram vedados com rolha de borracha e lacrados com fita tipo *Silver-tape*. Os frascos foram mantidos em temperatura de 35°C por 168 horas.

Alíquotas de 4 mL foram retiradas diariamente para análise dos seguintes parâmetros: pH (pHmêtro), temperatura (pHmêtro) e DQO (Métodos padronizados segundo Standard Methods, 2012).

**Tabela 6: Composição do meio de cultura metanogênico para alimentação do reator.**

Componente orgânico	DQO (mg.L <sup>-1</sup> )	Composto orgânico	Concentração
Proteína	100	Extrato de carne	0,05 g.L <sup>-1</sup>
Carboidratos	50	Glicose	0,05 g.L <sup>-1</sup>
	50	Amido	0,017 g.L <sup>-1</sup>
Glicerol	250	Glicerol Puro	0,26mL.L <sup>-1</sup>
		Glicerol Bruto derivado de Óleo Residual	0,1 mL.L <sup>-1</sup>
		Glicerol Bruto derivado de Gordura Suína	0,1 mL.L <sup>-1</sup>

#### 5. ANÁLISES QUÍMICAS

##### I. DETERMINAÇÃO DE CONCENTRAÇÃO DE SULFATO

Para a determinação da concentração do sulfato foi seguida a metodologia de Kolmert; Wikstrom; Hallberg (2000). Para a preparação das amostras, transferiu-se 1 mL da amostra para um tubo Falcon, contendo 3mL de água e alguns cristais de cloreto de cobre (CuCl<sub>2</sub>). Posteriormente foi adicionado 6 mL de água destilada com a pipeta automática. Deste tubo, 1 mL de amostra foi retirado e transferido para um tubo de vidro com tampa rosqueável com posterior adição de 1mL de solução condicionante e 70 mg de cloreto de bário. Agitou-se cuidadosamente por 30segundos. Em seguida as amostras foram transferidas para cubeta e realizou-se a leitura da turbidez em espectrofotômetro a 430nm.

##### II. DETERMINAÇÃO DA TEMPERATURA E pH

As análises de temperatura e pH foram realizadas sempre que ocorria a alimentação dos reatores adaptação e nos ensaios em batelada. Esses parâmetros foram aferidos através do equipamento multiparâmetro do modelo HQ 40 multi da marca Hach®.

##### III. DETERMINAÇÃO DA DEMANDA QUÍMICA DE OXIGÊNIO (DQO)

As medidas de DQO foram realizadas de acordo com o método colorimétrico de refluxo fechado, como descrito no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (AWWA/APHA/WEF, 2012).

Para determinação da DQO o primeiro passo foi o preparo da amostra, adicionando 4 mL da amostra a um tubo Falcon e acidificou com uma gota de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, que foi posteriormente centrifugada a 100rpm por 5 minutos.

A amostra foi homogeneizada com o auxílio de uma micropipeta e 2,5mL foram transferidos para o tubo. Posteriormente 1,5mL de uma solução digestora e 3,5mL do reagente ácido sulfúrico/sulfato de prata foram



adicionados no tubo, esse que foi tampado e agitado algumas vezes para a homogeneização e limpo com um papel macio e absorvente.

O tubo rosqueável foi inserido no termorreator e mantido a  $150 \pm 2^\circ\text{C}$  por duas horas. Passado o tempo necessário, os tubos foram resfriados a temperatura ambiente, agitados algumas vezes e mantidos em repouso para a sedimentação de quaisquer sólidos. A leitura foi feita em espectrofotômetro a 600nm.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **1. MONITORAMENTO DO LODO DE ESGOTO – ADAPTAÇÃO BRS**

O monitoramento dos parâmetros pH e temperatura do reator de adaptação do lodo de inóculo com meio específico para atividade sulfetogênica (Figura 4 e 5). Os resultados foram coletados por 311 dias. Na Figura 4, observa-se valores de pH compreendidos entre 6,84 e 7,77, com valor médio de 7,16, e na Figura 5 valores de temperatura entre  $22,0^\circ\text{C}$  e  $30,2^\circ\text{C}$ , com a média de  $27,3^\circ\text{C}$ . De acordo com Lens e colaboradores (2002), esses parâmetros estão compreendidos dentro das condições ideais de crescimento das BRS.

**Figura 4. Monitoramento do pH do reator de atividade sulfetogênica.**

**Figura 5. Monitoramento da temperatura do reator de atividade sulfetogênica.**

### **2. MONITORAMENTO DO LODO DE ESGOTO – ADAPTAÇÃO ARQUEAS METANOGÊNICAS**

As Figuras 6 e 7 apresentam o monitoramento dos parâmetros pH e temperatura do reator de adaptação do lodo de inóculo com meio específico para atividade metanogênica. Os resultados foram coletados por 311 dias e os valores de pH ficaram entre 6,35 e 7,28, com valor médio igual a 6,73, sendo uma faixa adequada para o crescimento das bactérias metanogênicas, concordando com estudos de Riuji (2009).

**Figura 6. Monitoramento do pH do reator de atividade metanogênica.**

Observa-se que a temperatura do reator variou entre  $21,9^\circ\text{C}$  e  $30,6^\circ\text{C}$ , com valor médio de  $27,2^\circ\text{C}$ , estando este intervalo de temperatura, de acordo com Nogueira (1986) nas condições ideais para o crescimento das bactérias mesofílicas.

**Figura 7. Monitoramento da temperatura do reator de atividade metanogênica.**

### **3. REATOR SULFETOGÊNICO**

#### **a.I. pH DO ENSAIO EM BATELADA DO REATOR SULFETOGÊNICO**

Como mostrado nas Figuras 8, 9 e 10, nas primeiras 20 horas do ensaio observa-se uma queda brusca no pH devido ao processo de fermentação realizado por micro-organismos fermentativos que competem com as BRS pelo glicerol, produzindo ácidos orgânicos (BERTOLINO, 2012) que podem ser utilizados pelas BRS. Concomitante com a queda do pH (produção de ácidos) observa-se a redução do sulfato (Figuras 11) no meio. As BRS ao utilizarem o glicerol (glicerol puro, glicerol bruto derivado de óleo residual e glicerol bruto derivado de gordura suína) e/ou os ácidos orgânicos, produtos metabólicos da fermentação, como fonte de carbono, reduzem o sulfato a íons sulfeto e bicarbonatos ( $\text{HCO}_3^-$ ), neutralizando a acidez do meio e o deixando com pH constante. Um comportamento semelhante do pH foi observado em estudos de Bertolino (2012) e Dinkel e colaboradores (2010).

**Figura 8. Evolução temporal do pH durante o monitoramento do ensaio sulfetogênico com glicerol puro.**

**Figura 9. Evolução temporal do pH durante o monitoramento do ensaio sulfetogênico com glicerol bruto derivado de óleo residual.**

**Figura 10. Evolução temporal do pH durante o monitoramento do ensaio sulfetogênico com glicerol bruto derivado de gordura suína**

#### **a.II. SULFATO DO ENSAIO EM BATELADA DO REATOR SULFETOGÊNICO**

Para todas as fontes de carbono avaliadas, a eficiência média de remoção de sulfatos (10,72%, 33,66% e 17,59%), tiveram valores próximos, valores que se assemelham aos resultados encontrados nos estudos de Gonçalves e colaboradores (2007), que utilizou como fonte de carbono o etanol e obteve uma eficiência de remoção de sulfato de 38%. Entretanto em estudos realizados por Shayegan e colaboradores (2005), em condições semelhantes de condução dos reatores (sem recirculação), utilizando melão como fonte de carbono, obteve remoções superiores a 80%.

Observando os resultados obtidos por Cao e colaboradores (2008), a baixa remoção de sulfato nos três tratamentos realizados pode ter sido devido a uma relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> baixa.

**Tabela 7. Remoção e eficiência de remoção média de sulfato em diferentes fontes de carbono no reator sulfetogênico.**

Fonte de carbono	Remoção média (mg/L)	Eficiência média (%)
Glicerol Puro	228,66	10,72
Glicerol bruto derivado de óleo residual	650,54	33,66
Glicerol bruto derivado de gordura suína	406,25	17,59

**Figura 11. Evolução temporal da concentração de sulfato durante o monitoramento do ensaio sulfetogênico com glicerol puro.**

**Figura 12. Evolução temporal da concentração de sulfato durante o monitoramento do ensaio sulfetogênico com glicerol bruto derivado de óleo residual.**

**Figura 13. Evolução temporal da concentração de sulfato durante o monitoramento do ensaio sulfetogênico com glicerol bruto derivado de gordura suína.**

#### **a.III. DQO DO ENSAIO EM BATELADA DO REATOR SULFETOGÊNICO**

Utilizando o glicerol bruto derivado de óleo residual como fonte de carbono no reator sulfetogênico, obteve-se uma maior eficiência na remoção de DQO (76,45%) conforme Tabela 8.

**Tabela 8. Remoção e eficiência média de DQO em diferentes fontes de carbono no reator sulfetogênico.**

Fonte de carbono	Remoção média (mg/L)	Eficiência média (%)
Glicerol Puro	1363,21	40,73
Glicerol bruto derivado de óleo residual	3370,97	76,45
Glicerol bruto derivado de gordura suína	1750,00	49,64

Observando as Figuras 14, 15 e 16 percebe-se uma variação grande de DQO ao longo do tempo do experimento. Isso pode ser devido ao fato de que a amostra foi centrifugada, mas não passou por filtragem, fazendo com que fosse adicionado o valor de DQO dos micro-organismos suspensos no sobrenadante coletado para a análise.

**Figura 14. Evolução temporal da DQO durante o monitoramento do ensaio sulfetogênico com glicerol puro.**

**Figura 15. Evolução temporal da DQO durante o monitoramento do ensaio sulfetogênico com glicerol bruto derivado de óleo residual.**

**Figura 16. Evolução temporal da DQO durante o monitoramento do ensaio sulfetogênico com glicerol bruto derivado de gordura suína.**

#### **4. REATOR METANOGÊNICO**

##### **4.I. pH DO ENSAIO EM BATELADA DO REATOR METANOGÊNICO**

Nas Figuras 17, 18 e 19 é possível notar uma queda no pH e, seu posterior aumento, fato explicado por Aquino e Chernicharo (2005), em que esta redução pode ser provocada por uma etapa de acidogênese, que tem a participação de bactérias fermentativas, que segundo Barretos e Campos (2009) estão presentes na rota metanogênica. Nessa etapa há a formação de ácidos orgânicos.

Quando a etapa de metanogênese acontece, um dos produtos finais das reações é o íon bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ), mantendo o tamponamento do meio, deixando o pH constante, fato observado em todos ensaios com diferentes fontes de carbono.

**Figura 17. Evolução temporal do pH durante o monitoramento do ensaio metanogênico com glicerol puro.**

**Figura 18. Evolução temporal do pH durante o monitoramento do ensaio metanogênico com glicerol bruto derivado de óleo residual.**

**Figura 19. Evolução temporal do pH durante o monitoramento do ensaio metanogênico com glicerol bruto derivado de gordura suína.**

##### **4.II. DQO do ensaio em batelada do reator metanogênico**

Utilizando o glicerol bruto derivado de óleo residual e o glicerol puro como fontes de carbono no reator metanogênico, obteve-se uma maior eficiência na remoção de DQO (70,51% e 57,43% respectivamente), conforme Tabela 9.

**Tabela 9. Remoção e eficiência média de DQO em diferentes fontes de carbono no reator metanogênico.**

Fonte de carbono	Remoção média (mg/L)	Eficiência média (%)
Glicerol Puro	342,5	57,43
Glicerol bruto derivado de óleo residual	565	70,51
Glicerol bruto derivado de gordura suína	70,83	14,14

Nas Figuras 21 e 22 observa-se que a concentração de DQO apresentou uma grande variação ao longo dos experimentos com glicerol bruto, como foi observado nos ensaios sulfetogênicos (Figuras 14, 15 e 16). Observa-se uma menor variação nos valores da concentração de DQO, no ensaio metanogênico com glicerol puro (Figura 20), isso devido ao fato de que as amostras foram filtradas antes da análise.

**Figura 20. Evolução temporal da DQO durante o monitoramento do ensaio metanogênico com glicerol puro.**

**Figura 21. Evolução temporal da DQO durante o monitoramento do ensaio metanogênico com glicerol bruto derivado de óleo residual.**

**Figura 22. Evolução temporal da DQO durante o monitoramento do ensaio metanogênico com glicerol bruto derivado de gordura suína.**

## **CONCLUSÃO**

O ensaio com reator sulfetogênico em batelada apresentou a remoção de sulfato de 10,72%, 33,66% e 17,59%, para as respectivas fontes de carbono, valores de remoção baixa que pode ser devido a relação baixa de DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>.

O ensaio com reator metanogênico apresentou remoções médias de DQO, para os respectivos meios de 57,43%, 70,51% e 14,14%, mostrando que a utilização do glicerol puro e glicerol bruto derivado de óleo residual propiciou uma remoção satisfatória de DQO.

Pelos resultados obtidos, constata-se que é necessário a realização de estudos complementares, com diferentes razões DQO/ SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> para que se estabeleça as melhores condições de remoção de sulfato utilizando diferentes tipos de glicerol, permitindo que esse resíduo seja utilizado, diminuindo o volume de glicerol para descarte.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. L. Acúmulo de ácidos graxos voláteis (AGV) em reatores anaeróbios sob estresse: causas e estratégias de controle. Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental. v. 10, p. 152-161, 2005.
2. AWWA – American Water Works Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 2012.
3. BARRETO, A. C.; CAMPOS, C. M. M. Avaliação de um sistema de irrigação autopropelido aplicando água residuária de suinocultura. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 33, p. 1752-1757, 2009.
4. BERTOLINO, S. M. Estudo da redução de sulfato em reatores contínuos utilizando glicerol. Tese (Doutorado em Engenharia de Materiais). Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2012.
5. BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. Resolução 357/2005. 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, e dá outras providências. Brasília: 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acessado em 29/11/2015.
6. BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. Resolução Nº 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>> 2005. Acessado em: 15/10/2015.
7. COPAM. DELIBERAÇÃO NORMATIVA Nº 01, DE 05 DE MAIO DE 2008. Publicação: Diário do Executivo de Minas Gerais, em 13 de maio de 2008, Retificação: Diário do Executivo de Minas Gerais, em 20 de maio de 2008.
8. CAO, J.; ZHANG, G.; MAO, Z.; FANG, Z.; YANG, C. Precipitation of Valuable Metals from Bioleaching Solution by Biogenic Sulfides. Elsevier: Minerals Engineering, China, p. 289-295, 2008.

9. CHAVEZ, J. D. Aproveitamento biotecnológico do glicerol derivado da produção de biodiesel para a obtenção de biomassa e ribonucleotídeos. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
10. CHERNICHARO, C. A. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: reatores anaeróbios. Belo Horizonte: DESA-UFMG, 2007. 380 p.
11. COUTO, P. T. Tratamento da drenagem ácida sintética em reator batelada. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal de Alfenas– Campus de Poços de Caldas, MG. Poços de Caldas: 2014.
12. COSTA, P. F. Cultivo de Bactérias redutoras de sulfato (BRS) e sua aplicação na remoção de sulfato e arsênio utilizando pó de penas de galinha como substrato orgânico. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Ouro Preto, 2012.
13. DINKEL, V., et al. Kinetics of anaerobic biodegradation of glycerol by sulfate-reducing bacteria. *Applied Biochemistry and Microbiology*, v. 46, n. 7, p.712-718, 2010.
14. GONÇALVES, M. M. M., *et al.* Heavy metal removal from synthetic wastewaters in an anaerobic bioreactor using stillage from ethanol distilleries as a carbon source. *Chemosphere*,v. 69, n. 11, p. 1815-1820, 2007.
15. GUEDES, K. A. Prospecção de bactérias com potencial aplicação na biorremediação de efluentes industriais contendo arsênio. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Ouro Preto), 2011.
16. KAKSONEN, A. H., FRANZMANN, P. D., PUHAKKA, J. A. Performance and ethanol oxidation kinetics of a sulfate-reducing fluidized-bed reactor treating acidic metalcontaining wastewater. *Biodegradation*, v. 14, p. 207-217, 2003.
17. KOLESÁROVÁ, N.; HUTŇAN, M.; BODÍK, I.; ŠPALKOVÁ, V. Utilization of biodiesel by-products for biogas production. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, v. 2011, p. 1-15, 2011.
18. KOLMERT, A. WIKSTROM, P. HALLBERG, K. B. A fast and simple turbidimetric method for the determination of sulfate in sulfate-reducing bacterial cultures. *Journal of Microbiological Methods*, v. 41, p. 179–184, 2000.
19. LUSTE, S.; LUOSTARINEN, S.; SILLANPAA, M. Effect of pre-treatments on hydrolysis and methane production potentials of by-products from meat-processing industry. *Journal of Hazardous Materials*, v. 164, p. 247-255, 2009.
20. LENS, P. N. L.; VALLEROL, M.; ESPOSITO, G.; ZANDVOORT, M. Perspectives of sulfate reducing bioreactors in environmental biotechnology. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, v. 1, n. 4, p. 311–25, 2002.
21. MEDÍRCIO, S. N. Redução do teor de sulfato e de metais em águas pela utilização de bactérias redutoras de sulfato. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). Ouro Preto, 2004.
22. NOGUEIRA, L. A. H. Biodigestão, a alternativa energética. São Paulo: Nobel, 1986. p. 1-93.
23. NUNES, D. G.; SOARES, A.C.; RUBIO, J. Remoção de íons sulfato de águas de drenagem ácida de carvão por precipitação química. XX ENTMMME - Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa. 1. ed. Florianópolis - SC: B. Propaganda, 2004, v. 1, p. 591-598.
24. RIZZO, A. C. L.; LEITE, S. G. F. Produção de sulfeto em reator do tipo UASB e sua potencial aplicação na remoção de metais pesados de efluentes. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2004.
25. SARTI, A.; SILVA, A. J.; CÔRTES, R.S.; FORESTI, E. Remoção de sulfato de águas residuárias industriais em reator anaeróbio de leito fixo operado em bateladas sequenciais. *Engenharia Sanitária e Ambiental*. v. 13 n. 1. Rio de Janeiro: 2008.

26. SHAYEGAN, J., *et al.* The effect of influent COD and upward flow velocity on the behavior of sulphate-reducing bacteria. *Process Biochemistry*, v. 40, n. 7, p. 2305-2310. 2005.
27. RIUJI, L. C. Research on anaerobic digestion of organic solid waste at household level in Dar Es Salaam, Tanzania. Bachelorthesis. Institute of Natural Resource Sciences. Zurich University. 2009. 63 f.
28. VAN LIER, J. B. Limitations of thermophilic anaerobic wastewater treatment and the consequences for process design. *Antonie van Leeuwenhoek*. v. 69, n. 1, p. 1-14. 1996.
29. WHO. Guidelines for drinking-water quality. Geneva. v. 1: 564 p. 2011.