

# REVISTA AIDIS

de Ingeniería y Ciencias Ambientales:  
Investigación, desarrollo y práctica.

## SUBSTITUIÇÃO DE $\text{Na}_2\text{SO}_4$ POR $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ COMO FONTE DE SULFATO EM BIORREATOR ANAERÓBIO CONTÍNUO DE REDUÇÃO DE SULFATO: DESAFIOS E SOLUÇÕES

\* Lucas A. de Oliveira Melgaço<sup>1</sup>  
Nayara Carolina Quitês<sup>1</sup>  
Versiane Albis Leão<sup>1</sup>

## REPLACING $\text{Na}_2\text{SO}_4$ WITH $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ AS A SULPHATE SOURCE IN A CONTINUOUS ANAEROBIC BIOREACTOR FOR SULPHATE REDUCTION: CHALLENGES AND SOLUTIONS

Recibido el 5 de febrero de 2018; Aceptado el 23 de agosto de 2018

### Abstract

*Phosphogypsum is one of mainly wastes generated from fertilizer production using wet method. The composition of this solid waste depends of phosphate ore processed, and it is basically  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , metals and residual acidity. The management of this waste is a challenge because of their characteristics and large amounts produced (5kg per 1kg phosphoric acid). Usually it is disposed in stacks near plants, however phosphogypsum can be leachate and its components run-off contaminating the near waters bodies. Recently, new disposition and treatments has been researched aiming re-use and recovery of materials from phosphogypsum. The current work investigated biogenic sulphate reduction in a lab-scale fluidized bed reactor fed with a saturated-calcium sulphate Postgate medium. After, these biogenic sulphide can be used to produce elemental sulphur or as precipitant agent for transition metals removal from industrial wastewaters. Initially the exchange of the sulphate source from  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  to  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  was assessed, which revealed that bicarbonate ions were required in the growth medium because  $\text{CaCO}_3$  precipitation reduced alkalinity in the reactor. Subsequently, the effect of  $\text{COD}/\text{SO}_4^{2-}$  mass ratio (1.3 and 1.8) on sulphate bio-reduction was assessed, whereas the highest removal (72±16%) was observed for the  $\text{COD}/\text{SO}_4^{2-}$  ratio of 1.8 and resulted in a specific sulphate removal rate of a  $0.244 \pm 0.03 \text{ gSO}_4^{2-}/\text{gVSS} \cdot \text{d}$ .*

**Keywords:** calcium sulphate Di-hydrate, sulphate reduction, sulphate-reducing bacteria, fluidized-bed reactor

<sup>1</sup> Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Escola de Minas, Universidade Federal de Ouro Preto, Brasil.

\*Autor correspondente: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais. Rua Maria da Conceição de São José, 206/Apto1103, Centro, Contagem, Minas Gerais. CEP 32041-300. Brasil.

Email: [lucasant.melgaco@gmail.com](mailto:lucasant.melgaco@gmail.com)

## Resumo

O fosfogesso (FG) é um dos principais resíduos da produção de fertilizantes usando o método via úmida. Esse resíduo sólido é constituído principalmente por  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , metais e acidez residual. O manejo apropriado desse material é um desafio devido às suas características e grandes volumes produzidos (5kg por kg ácido fosfórico). A forma mais comum de disposição tem sido sua acomodação em pilhas próximas às usinas, contudo pode ocorrer a lixiviação dos componentes presentes no fosfogesso das colunas e a consequente contaminação de corpo d'água próximos. Por isso, recentemente novas formas de disposição tem sido investigadas, visando o reuso e recuperação de materiais deste resíduo. No presente trabalho, avaliou-se a viabilidade da produção de íons sulfeto por bactérias redutoras de sulfato em um reator contínuo de leito fluidizado alimentado com meio de cultura Postgate saturado com sulfato de cálcio di-hidratado ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) p.a. O sulfeto gerado pode ser utilizado posteriormente para a produção de enxofre elementar ou usado na precipitação de metais de transição presentes em efluentes industriais. Para isso, inicialmente realizou-se a substituição de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  pelo  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  p.a como fonte de sulfato e observou-se que é necessário adicionar íons bicarbonato à alimentação do sistema, devido a precipitação de  $\text{CaCO}_3$  o que reduz a alcalinidade no reator. Em seguida, a influência da variável razão mássica da carga orgânica (expressa em termos da demanda química de oxigênio – DQO)/ $\text{SO}_4^{2-}$  1.3 e 1.8 sobre a redução do sulfato foi investigada, sendo que a maior remoção de sulfato ( $72 \pm 16\%$ ) foi observada para razão DQO/ $\text{SO}_4^{2-}$  igual a 1.8 e resultou numa taxa específica de remoção do ânion igual a  $0.244 \pm 0.03$   $\text{gSO}_4^{2-}/\text{g.SólidosSuspensosVoláteis.d}$ .

**Palavras chave:** sulfato de cálcio, redução de sulfato, bactérias redutoras de sulfato, leito fluidizado.

## Introdução

Com o aumento da população mundial, a demanda por alimentos cresceu exponencialmente, o que acarretou na elevação do consumo de fertilizantes, entre outros produtos utilizados na agricultura (CETEM *et al.*, 2010). Dentre estes, o ácido fosfórico é uma das importantes matérias-primas na cadeia produtiva dos fertilizantes.

Entre os diferentes processos de produção do ácido fosfórico, o via úmida é o mais utilizado no Brasil. O processo inicia-se quando o ácido sulfúrico é aplicado na dissolução da rocha fosfática (contendo apatita), sendo gerado um resíduo sólido constituído principalmente por sulfato de cálcio di-hidratado ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), denominado fosfogesso (Rutherford *et al.*, 1994; Tayibi *et al.*, 2009).

Cerca de cinco toneladas de fosfogesso são geradas para cada tonelada de ácido fosfórico produzido (Tayibi *et al.*, 2009) e por isso, a disposição deste resíduo é problemática, uma vez que o mesmo apresenta características ácidas (pH 2-3) e é relativamente solúvel em soluções aquosas. Além disso, pode conter elementos tóxicos e em alguns casos, radioativos dependendo das características da rocha fosfática utilizada. Portanto, o fosfogesso pode trazer graves impactos ao meio ambiente se não for disposto de forma adequada, o que no Brasil, é feito em pilhas nas redondezas das usinas de produção (Melgaço *et al.*, 2015). Devido a esta disposição, o FG ao entrar em contato, por exemplo com água de chuva, pode acarretar na contaminação do solo, águas superficiais e subterrâneas, dada à solubilidade do sulfato de cálcio (Rutherford *et al.*, 1994;

Tayibi et al., 2009). Dessa forma, o tratamento desse resíduo é um desafio importante para a sustentabilidade da indústria de fertilizantes no país.

Uma forma inovadora para o tratamento desse resíduo sólido é a sua utilização como fonte de sulfato em reatores anaeróbios sulfetogênicos, o que já foi demonstrado em sistemas batelada, apresentando resultados satisfatórios de crescimento microbiano e redução de sulfato na presença de diferentes substratos orgânicos (Azabou *et al.*, 2005, 2007; Castillo *et al.*, 2012; Rzeczycka *et al.*, 2010; D. Wolicka, 2008; Dorota Wolicka & Borkowski, 2009). A vantagem desse processo está relacionada à possibilidade de recuperação do enxofre elementar em etapa posterior, visto que os íons sulfetos oriundos da redução biológica do sulfato podem ser oxidados parcialmente a enxofre elementar. Esta opção se torna atrativa uma vez que o consumo desse elemento pela indústria brasileira é elevado, havendo necessidade de sua importação.

Contudo, para viabilizar esse processo, a etapa inicial de conversão do íon sulfato a sulfeto pelas bactérias redutoras de sulfato (BRS) a partir do FG precisa ser mais investigada, uma vez que na literatura há uma lacuna de estudos relacionados ao uso do FG como fonte de sulfato em sistemas contínuos (Melgaço *et al.*, 2015). Sendo assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o uso do sulfato de cálcio (componente principal do FG) como fonte de sulfato para BRS em um reator contínuo de leito fluidizado, como uma etapa preliminar, ao uso do resíduo real. O presente estudo analisa o comportamento do reator durante a substituição de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  pelo  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  p.a como fonte de sulfato e o efeito da relação  $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$  sobre a bio-redução deste ânion.

## Metodologia

### Reator Anaeróbio de Leito Fluidizado:

No presente estudo, foi usado um reator do tipo Leito Fluidizado (RLF) (Figura 1) no laboratório de Bio&Hidrometalurgia da Escola de Minas da Universidade Federal de Ouro Preto (Melgaço *et al.*, 2015).



Figura 1. Reator de Leito Fluidizado

O reator possui 60 cm de altura, 5.6 cm de diâmetro e um volume útil de 1.12 L. Três pontos de amostragem interna (biofilme) do reator, saída de gás e tanques de alimentação do afluente e coleta, completavam o sistema. A solução afluente era bombeada para o reator na vazão de 2.8 L/d por uma bomba dosadora peristáltica (Milan BP-600). Foram adicionadas ao reator 150 g de carvão ativado granular como material suporte (diâmetro médio: 2.1 mm; densidade: 1.63 g/cm<sup>3</sup>; área superficial: 566 m<sup>2</sup>/g). Para fluidização do biofilme o efluente era recirculado a partir do topo do reator com vazão de recirculação de 3.9 m<sup>3</sup>.d<sup>-1</sup> usando uma bomba de motor monofásico Nord com inversor de frequência Danfoss VLT 2800, resultando em altura do leito fluidizado igual a 34 cm (55% de fluidização). O reator era mantido em sala climatizada a um temperatura de 27±3°C, dentro de uma capela de exaustão devido à liberação do gás sulfídrico, sendo alimentado diariamente com meio de cultura POSTGATE C modificado, cuja composição é apresentada na tabela 1, sendo o sulfato de cálcio p.a. solubilizado no mesmo. Para obter a relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 2.5, adicionou-se 5g/L de DQO ao sistema, utilizando uma mistura 90% glicerol/10% lactato. O efluente era amostrado e posteriormente descartado em solução de hipoclorito de sódio e o gases de saída, borbulhados em solução de NaOH.

**Tabela 1.** Composição do meio de cultura Postgate C modificado.

Componente/Condição	Concentração (g/L)
NaHCO <sub>3</sub> p.a.	1
NH <sub>4</sub> Cl p.a.	1
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O p.a.	0.06
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O p.a.	0.1
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> p.a.	0.5
Extrato de levedura p.a.	0.25
CaSO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O p.a.	3.2
Lactato	0.64
Glicerol	2.52

#### Rotina experimental:

A rotina de monitoramento e a frequência de amostragem do reator são apresentadas na tabela 2. Inicialmente, o reator foi operado durante 51 dias, sob as condições apresentadas na tabela 3, utilizando apenas glicerol como fonte de carbono, para uma concentração de sulfato afluente média de 1756±173 mg/L. A razão DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> adotada foi de 2.2±0.3, uma vez que nestas condições operacionais, Bertolino (2012) obteve resultados significativos para remoção de sulfato (acima de 90%) usando glicerol e sulfato de sódio p.a como fonte de carbono e sulfato, respectivamente.

**Tabela 2.** Rotina de monitoramento.

Parâmetro	Pontos e Frequência de Amostragem		
	Afluente	Efluente	Interior do reator
Temperatura, pH, Eh	Diária	Diária	1 x semana
Concentração de sulfato	3 x semana	3 x semana	-
DQO, ácidos voláteis totais e ácidos orgânicos	2 x semana	2 x semana	-
Alcalinidade	2 x semana	2 x semana	1 x semana
Sólidos suspensos voláteis	1 x semana	1 x semana	1x semana
População de BRS	Ao final de cada fase		

**Tabela 3.** Condições operacionais do reator nos primeiros 51 dias do experimento.

Duração (dias)	51
DQO/SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (100% glicerol)	2.2
TRH (h)	10.2±2.6
CSA (Kg/m <sup>3</sup> .d)	5.37
COA (Kg/m <sup>3</sup> .d)	14.7
pH afluente	5.4±0.12
A.B. afluente (mgCaCO <sub>3</sub> /L)	2.01±1.43
Sulfato afluente (mg/L)	1756±173

CSA = Carga de SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> aplicada; COA = Carga orgânica aplicada; A.B = Alcalinidade a bicarbonato;

No 52º dia, reduziu-se a razão DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> do valor 2.2±0.3 para 1.3±0.2, para estimular a geração de sulfeto no reator e passou-se a utilizar a mistura 90% glicerol 10% lactato (na forma de DQO) como fonte de carbono. A partir do 74º dia, a razão DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> foi aumentada para 1.8±0.1, a fim de avaliar a influência desta na redução do sulfato (tabela 4). Os experimentos dessa etapa foram divididos da seguinte forma: Fase A do dia 52 a 73 e fase B do dia 74 a 134.

**Tabela 4.** Programa experimental usando sulfato de cálcio p.a. para TRH igual a 10,2±2,6h.

Fase	A	B
Duração (dias)	22	59
DQO/SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	1.3±0.2	1.8±0.1
CSA afluente (Kg/m <sup>3</sup> .d)	5.9	5.2
COA afluente (Kg/m <sup>3</sup> .d)	8	9.2
pH afluente	7.75±0.08	7.61±0.13
AB afluente (mgCaCO <sub>3</sub> /L)	84.65±2.22	111.71±3.99
[SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ] afluente (mg/L)	2049±59	1886±90

Todos os valores das razões DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> reportados foram obtidos a partir das concentrações de DQO e sulfato medidas no afluente ao reator.

#### Análises físico-químicas:

As medidas de pH e Eh foram realizadas em um medidor digital de pH/milivolt DIGIMED, modelo DM-20 com eletrodo tipo escoamento DME-CV1 (para o Eh) e eletrodo combinado de platina modelo DMR-CP1 (para pH).

Para as análises de DQO, alíquotas do afluente e do efluente do reator eram acidificadas, purgadas com N<sub>2</sub> para eliminar o H<sub>2</sub>S e em seguida diluídas 10 vezes. Posteriormente, era realizada a digestão das amostras em um bloco digestor, a 150°C e a DQO total era analisada medindo-se a absorvância (600nm) em um espectrofotômetro UV/Vis (Hitachi – U2800A), conforme descrito no “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (APHA, 2017).

Além das análises de DQO, a determinação dos sólidos suspensos voláteis (SSV) também foi realizada seguindo o procedimento descrito no “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (Melgaço *et al.*, 2015; APHA, 2017).

Determinou-se a concentração de cálcio e sulfato nas amostras por ICP-OES. Para tal, as amostras do afluente do reator eram filtradas em membrana Millipore com 0.45 µm de porosidade e diluídas 100 vezes. Já para o efluente do reator eram adicionados à amostra cerca de 2 mL de solução de acetato de zinco, 2 mol/L, para precipitação do sulfeto. Em seguida, as amostras eram centrifugadas, filtradas em membrana Millipore com 0.45 µm de porosidade e diluídas 50 ou 10 vezes, antes de serem enviadas para análise no ICP-OES. O sulfato foi quantificado a partir do conteúdo de enxofre total e assumiu-se que o mesmo representava o sulfato do sistema, uma vez que não foi observada a formação de tiosulfatos, a partir de análises prévias. O enxofre em solução era então considerado como o sulfato não reduzido no biorreator (Melgaço *et al.*, 2015).

A análise dos ácidos orgânicos (acetato, butirato, propionato) e do lactato residual foram realizadas por cromatografia de íons (Metrohm) usando detector por condutividade. A alcalinidade a bicarbonato (AB) e os ácidos graxos voláteis (AGV's) foram determinados pelo método titrimétrico (Kapp), descrito por Buchauer (1998).

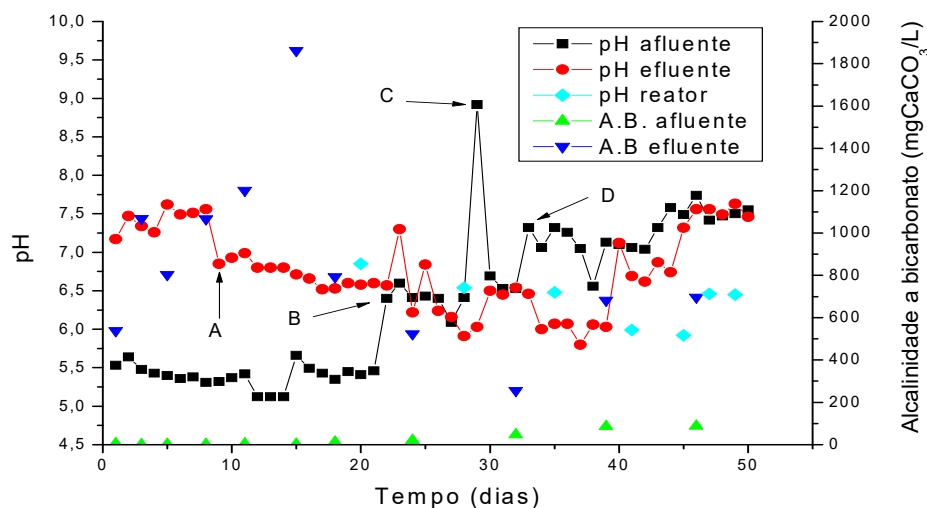
A contagem de micro-organismos (BRS) foi realizada seguindo o procedimento dos tubos múltiplos ou número mais provável (APHA, 2017). A partir de uma alíquota do lodo juntamente com cerca de 1g do carvão ativado provenientes do interior do reator, foram realizadas 10 diluições seriadas em meio seletivo para BRS (Postgate C - Postgate, 1979), em triplicatas. Antes dos experimentos, os tubos eram esterilizados em autoclave a 120°C por 20 min. Então, os tubos contendo os meios de cultura eram inoculados e juntamente com o controle eram purgados com

$N_2$ , fechados e incubados por 30 dias, a 35°C, em estufa microbiológica. O crescimento de BRS era evidenciado a partir do escurecimento do meio de cultura. O número mais provável de microrganismos foi estimado a partir do crescimento observado nos tubos de maior diluição. Todos os valores reportados no trabalho referem-se a bactérias aderidas ao carvão e presentes na fase líquida, pois previamente, a amostra foi submetida a ultrassom de forma a desprender o biofilme aderido ao carvão.

## Resultados

### Comportamento do reator durante a substituição da fonte de sulfato para as BRS.

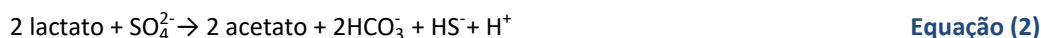
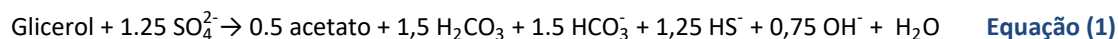
Previamente ao início dos ensaios aqui reportados, o reator era operado tendo o sulfato de sódio como fonte de sulfato, sendo que a operação do biorreator e os principais resultados podem ser encontrados em Bertolino *et al.*, (2014). Dessa forma, o primeiro dia de experimento mostrado na figura 2 representa a data de troca do  $Na_2SO_4$  pelo  $CaSO_4 \cdot 2H_2O$  como fonte de sulfato. Além disso, na figura 2, é apresentada a variação do pH e da alcalinidade durante os 50 primeiros dias de experimento, sob as condições operacionais do RLF apresentadas na tabela 3. As letras A, B, C e D indicam os principais eventos que ocorreram durante esse período.



**Figura 2.** Monitoramento diário do pH durante os 50 primeiros dias de experimento com o sulfato de cálcio p.a. Condições operacionais: TRH=10.2±2.6h; 100% glicerol como fonte de carbono; DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> = 2.2; [SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>] afluente = 1756±173 mg/L; 27±3°C.

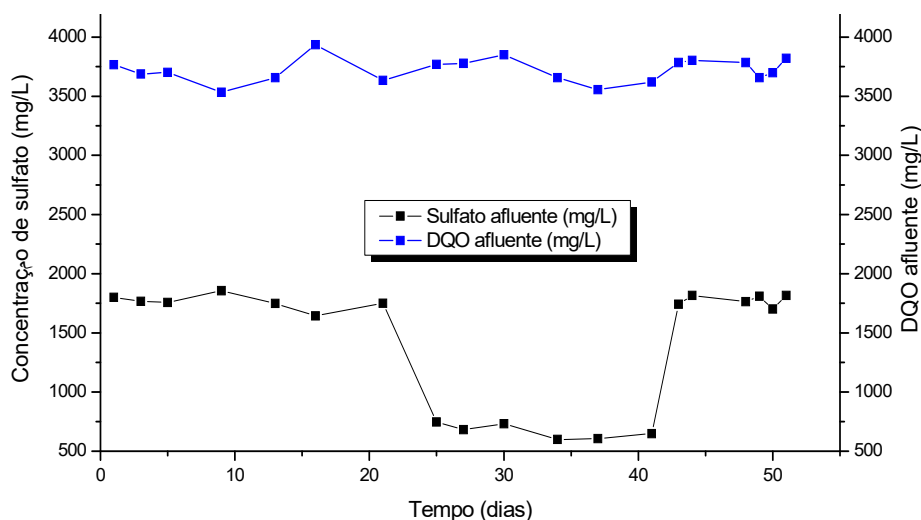
De acordo com a figura 2, a partir do uso do  $CaSO_4 \cdot 2H_2O$  p.a., observou-se uma queda no pH do efluente do reator de  $7.46 \pm 0.31$  para  $6.71 \pm 0.25$  (evento A). Houve também a diminuição da alcalinidade efluente (para  $803.5 \pm 135.8$  mgCaCO<sub>3</sub>/L, no 5º dia) em comparação ao valor medido quando o  $Na_2SO_4$  p.a. era a fonte de sulfato ( $1342.9 \pm 335.8$  mgCaCO<sub>3</sub>/L, dado não mostrado na

figura 2) e que era responsável por manter o pH acima de 7.2 até o 8º dia após o  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  p.a. tornar-se a fonte de sulfato. A alcalinidade presente em reatores de redução de sulfato é devida à oxidação do substrato, como mostram as equações 1 e 2 (Bertolino *et al.*, 2014).



Além da redução da alcalinidade, também houve diminuição na concentração média de cálcio no efluente de  $782 \pm 211$  mg/L para  $435 \pm 189$  mg/L, ao longo da primeira semana. Por isso, postulou-se a formação de carbonato de cálcio no interior do reator, o que foi confirmado via difratometria de raios-x (dado não mostrado) e explicou a redução da alcalinidade responsável pelo tamponamento do sistema. A formação do carbonato de cálcio é consistente com outros trabalhos que estudaram o uso do sulfato de cálcio como fonte de sulfato em sistemas batelada (Selvaraj, 1996; Kim *et al.*, 2003; Kijjanapanich *et al.*, 2013, 2014).

Para manter uma operação estável do reator, foi necessária a adição de alcalinidade na forma de bicarbonato de sódio (0.5 g/L) à solução afluyente ao mesmo, no 22º dia de operação, o que elevou o pH para 6.5 (evento B – figura 2). Entretanto, o aumento do pH de entrada pode ter propiciado a co-precipitação de  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  com fosfatos insolúveis de cálcio, pois houve diminuição da concentração de íons sulfato na solução saturada afluyente ao reator - de cerca de 1700 mg/L para aproximadamente 750 mg/L no 22º dia (figura 3) e por isso a quantidade de substrato orgânico presente no sistema ficou em excesso em relação ao sulfato, levando a uma razão  $\text{DQO}/\text{SO}_4^{2-}$  para valores em torno de 5.



**Figura 3.** Concentração de sulfato e DQO afluyente durante os 50 primeiros dias de experimento com o sulfato de cálcio p.a. Condições operacionais: TRH =  $10.2 \pm 2.6$ h; 100% glicerol como fonte de carbono;  $27 \pm 3^\circ\text{C}$ .



O inesperado aumento da razão DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> a partir do 22º dia favoreceu o predomínio da rota metabólica fermentativa durante a degradação do substrato orgânico, pois houve queda continuada no pH e as análises de ácidos graxos voláteis apresentaram valores elevados (1970.6 mg/L e 1282.3 mg/L, respectivamente, para acetato e propionato). Com a queda no pH, houve diminuição da população de BRS de 1.87x10<sup>9</sup> células/mL para 2.35x10<sup>5</sup> células/mL nesse período. Como consequência, os rendimentos de remoção de sulfato e DQO reduziram-se para 15±2% e 32±5%, respectivamente, e a taxa de remoção específica de sulfato foi de apenas 0.019±0.002 gSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>/gSSV.d.

Para contornar esse problema, foram adotados os seguintes procedimentos: (i) adicionou-se alcalinidade na forma de carbonato de sódio no interior do reator no 29º dia, para neutralizar a acidez gerada (evento C – figura 2), o que elevou o pH; (ii) o fosfato monobásico foi retirado do meio Postgate C e (iii) aumentou-se a concentração de bicarbonato de sódio afluyente para 1 g/L, a partir do 33º dia (evento D – figura 2). O procedimento (ii) foi realizado para que não ocorresse a precipitação de fosfatos no tanque de alimentação, sendo que o fosfato monobásico passou a ser adicionado diretamente no interior do reator 1 vez por semana (Melgaço *et al.*, 2015). Após esses procedimentos, houve o aumento da concentração de sulfato no meio de cultura, como mostra a figura 3 e os valores de pH de entrada e de saída se estabilizaram acima de 7.0 (figura 2).

A literatura não aponta para a necessidade de tamponamento em sistemas batelada utilizando o CaSO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O como fonte de sulfato (Selvaraj, 1996; Ghigliazza *et al.*, 2000; Azabou *et al.*, 2005; Azabou *et al.*, 2007; D. Wolicka, 2008; D. Wolicka e Borkowski, 2009); Rzczycka *et al.*, 2010; Castillo *et al.*, 2012) e para sistemas contínuos não existem estudos prévios. Os resultados obtidos durante esta etapa apontam para a necessidade do tamponamento do sistema, adicionando alcalinidade na alimentação, devido à precipitação de carbonato de cálcio no reator (Melgaço *et al.*, 2015).

#### Operação contínua usando CaSO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O como fonte de sulfato.

A queda na solubilidade do sulfato de cálcio di-hidratado resultou em elevadas relações DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> no reator. Para estimular a atividade das BRS e reativar o sistema, além da adoção dos procedimentos descritos na seção anterior, decidiu-se também, a partir do 52º dia de operação: (i) reduzir a DQO de entrada no reator e (ii) adicionar 10% de lactato na fonte de carbono. A tabela 5 apresenta os resultados obtidos para as razões DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> iguais a 1.3 e 1.8.

Durante a fase A, sob uma carga volumétrica de sulfato de 5.9 KgSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>/m<sup>3</sup>.d e uma carga orgânica aplicada de 8.0 KgDQO/m<sup>3</sup>.d, foi obtida uma remoção de 36.9±12.7% do sulfato e a concentração residual do íon atingiu 1279.8±247.2 mgSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>/L. Outros trabalhos utilizando o mesmo tipo de reator sob a mesma relação DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, porém usando diferentes substratos como lactato (Gungor *et al.*, 2010), etanol/lactato (Nevatalo *et al.*, 2010) ou lixiviado de aterro sanitário

(Sahinkaya *et al.*, 2013) obtiveram resultados para a remoção de sulfato na ordem de 85%, 96% e 90%, respectivamente. Entretanto, o baixo valor de remoção encontrado no presente estudo pode ser justificado pela limitada concentração de glicerol, uma vez que para essa fonte de carbono são obtidas maiores eficiências em razões DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> próximas a 2.2 (Bertolino *et al.*, 2014; Melgaço *et al.*, 2015).

**Tabela 5.** Resultados obtidos durante as diferentes fases dos experimentos com o sulfato de cálcio p.a. utilizando-se 90% glicerol - 10% lactato como fonte de carbono. Condições operacionais: TRH = 10.2±2.6h; 27±3°C.

Fase	Duração (dias)	Relação DQO/SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Afluente			Efluente					
			DQO (mg/L)	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg/L)		DQO (mg/L)	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg/L)	Remoção SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (%)	AGV's (mg/L)	A.B. (mg/L)	pH
A	22	1.3±0.2	2482±206	1949±59		1656±441	1279.8±247.2	36.9±12.7	2413±106	1416±9	7.83±0.19
B	59	1.8±0.1	3431±121	1886±90		1963±738	515.9±316.4	72.1±16.4	930±63	801±51	7.70±0.22

Durante a fase C, sob uma razão DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> = 1.8, a remoção de sulfato média obtida foi de 72.1±16.4%. Esse valor correspondeu a uma concentração de sulfato residual médio de 515.9±316.4 mgSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>/L. Em comparação aos resultados obtidos na fase anterior, os obtidos nesta etapa foram os melhores em termos de remoção de sulfato e concentração residual do ânion no efluente. Esse aumento pode ser atribuído à maior disponibilidade de substrato orgânico (carga orgânica aplicada de 8.9 KgCOD/m<sup>3</sup>.d). Além disso, utilizando o glicerol como substrato, razões DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> próximas a 2,0 favorecem a biorredução (Bertolino, 2012; Melgaço *et al.*, 2015).

Foi analisada também, via titulação, a concentração de ácidos graxos voláteis (AGV's) como apresentado na tabela 5, que se reduziu de 2413 mg/L na fase A para 930 mg/L na fase B. Com a estabilização do sistema, o pH manteve-se numa faixa neutra (7.81±0.19), durante a fases B, favorecendo o desenvolvimentos das BRS (Nevatalo *et al.*, 2010), o que foi evidenciado pelo aumento na sua população de 1.98x10<sup>7</sup> células/mL na fase A (DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> = 1.3) para 5.4x10<sup>8</sup> células/mL na fase B (DQO/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> = 1.8). Além disso, os valores de Eh do sistema mantiveram-se constantes ao longo dos experimentos (-259±91 mV), o que comprova a eficácia do processo de tamponamento do sistema. Os valores de pH obtidos estão em consonância com outros trabalhos da literatura que utilizaram condições operacionais semelhantes (Cirik *et al.*, 2013; Nevatalo *et al.*, 2010; Sahinkaya *et al.*, 2013; Melgaço *et al.*, 2015).

De acordo com os resultados apresentados da tabela 6 é possível avaliar o efeito de parâmetros operacionais como a razão  $DQO/SO_4^{2-}$  na população de BRS presente no reator. Para isso, foi necessário contabilizar também as BRS aderidas ao carvão ativado. Além disso, foi determinada a concentração de sólidos suspensos voláteis (SSV) durante os experimentos e a taxa específica de remoção de sulfato, sendo todos esses resultados apresentados na tabela 6. Tais valores são superiores aos encontrados por Bertolino *et al.*, (2014) em condições operacionais semelhantes, onde foi observado uma taxa específica de remoção de sulfato de  $0.172 \pm 0.010 \text{ gSO}_4^{2-}/\text{gSSV.d}$ , para uma razão  $DQO/SO_4^{2-} = 2.2$ .

**Tabela 6.** Resultados obtidos durante as diferentes fases dos experimentos com o sulfato de cálcio p.a. Condições operacionais: TRH:  $15 \pm 2.6$ h; 90% glicerol /10% lactato;  $27 \pm 3^\circ\text{C}$ .

Fase (Relação $DQO/SO_4^{2-}$ )	População de BRS (células/mL)	Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) (g/L)	Taxa específica de remoção de sulfato ( $\text{gSO}_4^{2-}/\text{gSSV.d}$ )
Estabilização* (2,2)	$2.35 \times 10^5$	16.8	$0.019 \pm 0.002$
A (1,3)	$1.98 \times 10^7$	15	$0.280 \pm 0.03$
B (1,8)	$5.4 \times 10^8$	18	$0.244 \pm 0.03$

\*A fase de estabilização está relacionada ao período de operação entre o 1º e 51º dia e o valor reportado corresponde ao período onde houve problemas na solubilidade do sulfato de cálcio e elevação da relação  $DQO/SO_4^{2-}$  para 5.0.

Os valores da concentração de sólidos suspensos voláteis (SSV) aumentaram com a razão  $DQO/SO_4^{2-}$ , apresentando maior valor para razão 1.8. Esse aumento da concentração está associado à maior atividade de micro-organismos, o que é evidenciado pelo acréscimo da população de BRS de  $2.35 \times 10^5$  células/mL (fase A) para  $5.4 \times 10^8$  células/mL (fase B). Bertolino *et al.*, (2014), utilizando somente glicerol como fonte de carbono observaram uma concentração de SSV em torno de 25 g/L. (Melgaço *et al.*, 2015).

A tabela 7 apresenta a média da remoção de DQO que atingiu em média 30% e 63%, respectivamente para as relações  $DQO/SO_4^{2-}$  iguais a 1.3 e 1.8. A diferença na remoção de DQO entre as fases pode estar associada à maior população de BRS na última (tabela 6). De qualquer forma, os valores obtidos são menores, do que os observados em outros trabalhos envolvendo reatores de leite fluidizado encontrados na literatura. Gungor (2010), utilizando lactato como substrato, obteve valores de remoção na faixa de 87% a 95%, sob uma razão  $DQO/SO_4^{2-} = 1.85$ , enquanto Sahinkaya *et al.*, (2013) observaram 95% de remoção de DQO, com etanol, sob uma razão  $DQO/SO_4^{2-} = 1.4$ .

As concentrações do íon acetato foram semelhantes nas fases A e B (tabela 7), observando-se um aumento ao final da fase B para valores próximos a 1200 mg/L. Em termos de fluxo de elétrons, observou-se que, durante a fase A ( $DQO/SO_4^{2-} = 1.3 \pm 0.2$ , tabela 4), para uma população de BRS de  $1.98 \times 10^7$  NMP/mL, 48% da matéria orgânica oxidada foi utilizada para remoção de 36% do

sulfato. Para a fase B ( $DQO/SO_4^{2-} = 1.8 \pm 0.1$ , tabela 4), foi observada utilização do substrato orgânico de 79%, para remoção de sulfato de 72%, com o aumento da população de BRS para  $5.4 \times 10^8$  NMP/mL. Esses valores de fluxo de elétrons apontam para a oxidação incompleta do substrato, ou seja, nem todos os elétrons envolvidos na oxidação do substrato orgânico são direcionados para o íon sulfato, sendo parte deles envolvidos na formação dos ácidos orgânicos, nesse caso o acetato. A degradação do substrato através de ambas rotas metabólicas (fermentação e sulfetogênese) produz acetato. A degradação do glicerol (fase majoritária no substrato orgânico) procede através de uma relação sintrófica, pois as BRS não são capazes de utilizá-lo diretamente como fonte de carbono, então é necessária a presença de bactérias fermentativas (BF) para que este substrato seja metabolizado a intermediários como o 1,3 propanodiol e hidroxipropionato (Melgaço *et al.*, 2015). Estes intermediários podem então ser degradados a acetato pelas BRS (Qatibi *et al.*, 1991; Dinkel *et al.*, 2010; Bertolino *et al.*, 2014). A presença do 1,3 propanodiol no reator foi observada corroborando essa hipótese (dado não apresentado).

**Tabela 7.** Média da remoção de DQO e concentração de acetato no efluente nas fases A e B.

Parâmetro	Fase A	Fase B
Remoção de DQO (%)	30±9	63±15
Concentração de acetato efluente (mg/L)	580±95	710±80

*Condições experimentais: Fase A:  $DQO/SO_4^{2-} = 1.3$  e fase B:  $DQO/SO_4^{2-} = 1.8$ ; TRH:  $10.2 \pm 2.6$ h;  $27 \pm 3$ °C.*

## Conclusões

Pode-se concluir que o sulfato de cálcio pode ser utilizado como fonte de sulfato para BRS em reatores contínuos de leito fluidizado. Contudo, observou-se que há a formação de  $CaCO_3$ , e por isso se faz necessário adicionar alcalinidade na forma de bicarbonato à alimentação do sistema. Além disso, a presença de fosfatos no afluente do reator ( $H_2PO_4^-$  e  $HPO_4^{2-}$ ) prejudica a solubilidade do sulfato de cálcio. Sendo assim, o fosfato precisa ser retirado do meio de cultura das BRS e ser adicionado diretamente dentro do reator, para que não eleve a razão  $DQO/SO_4^{2-}$  afluente o que pode comprometer o funcionamento do sistema.

Para o sulfato de cálcio, a razão  $DQO/SO_4^{2-} = 1.8$  apresentou os melhores resultados de remoção de sulfato ( $72 \pm 16\%$ ) e uma remoção de DQO igual a  $63 \pm 13\%$ . Além disso, foi observada a produção de acetato em ambas as relações  $DQO/SO_4^{2-}$  avaliadas, uma vez que este ácido orgânico é produzido em ambas rotas metabólicas de degradação do glicerol (fermentação e sulfetogênese).

## Agradecimientos

Os autores agradecem à CAPES, ao CNPq, à FAPEMIG e à FINEP pelo apoio. As bolsas de iniciação científica (CNPq), mestrado (CAPES) e produtividade em pesquisa (CNPq) são especialmente reconhecidas.

## Referencias bibliográficas

- APHA. (1998). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (20ª ed.). Washington, D.C. (USA): American Public Health Association.
- Azabou, S., Mechichi, T., Sayadi, S. (2005). Sulfate reduction from phosphogypsum using a mixed culture of sulfate-reducing bacteria. *International Biodeterioration & Biodegradation*, **56**(4), 236-242.
- Azabou, S., Mechichi, T., Sayadi, S. (2007). Zinc precipitation by heavy-metal tolerant sulfate-reducing bacteria enriched on phosphogypsum as a sulfate source. *Minerals Engineering*, **20**(2), 173-178.
- Bertolino, S. M. (2012). *Estudo da redução do sulfato em reatores contínuos usando glicerol*. (PhD thesis), Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto - Brazil.
- Bertolino, S. M., Melgaço, L. A., Sá, R. G., Leão, V. A. (2014). Comparing lactate and glycerol as a single-electron donor for sulfate reduction in fluidized bed reactors. *Biodegradation*, **25**(5), 719-733.
- Castillo, J., Perez-Lopez, R., Sarmiento, A. M., Nieto, J. M. (2012). Evaluation of organic substrates to enhance the sulfate-reducing activity in phosphogypsum. *Sci Total Environ*, **439**, 106-113.
- CETEM, Brasil. (2010). *Agrominerais para o Brasil*. Rio de Janeiro: Centro de Tecnologia Mineral (CETEM); Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT). 267p
- Cirik, K., Dursun, N., Sahinkaya, E., Cinar, O. (2013). Effect of electron donor source on the treatment of Cr(VI)-containing textile wastewater using sulfate-reducing fluidized bed reactors (FBRs). *Bioresour Technol*, **133**, 414-420.
- DINKEL, V. G., FRECHEN, F. B., DINKEL, A. V., SMIRNOV, Y. Y., KALYUZHNYI, S. V. (2010) Kinetics of anaerobic biodegradation of glycerol by sulfate-reducing bacteria. *Applied Biochemistry and Microbiology*, **46**(7), 712-718.
- Ghigliazza, R., Lodi, A., Rovatti, M. (2000). Kinetic and process considerations on biological reduction of solubles and scarcely soluble sulfates. *Resources, Conservation and Recycling*, **29**, 181-194.
- Gungor, E. S. M. (2010). Comparison of sulfidogenic up-flow and down-flow fluidized-bed reactors for the biotreatment of acidic metal-containing wastewater. *Bioresour Technology*, **101**, 9508-9514.
- Kijjanapanich, P., Annachatre, A. P., Esposito, G., Hullebusch, E. D. v., Lens, P. N. L. (2013). Biological sulfate removal from gypsum contaminated construction and demolition debris. *J Environ Manage*, **131**, 82-91.
- Kijjanapanich, P., Do, A. T., Annachatre, A. P., Esposito, G., Yeh, D. H., Lens, P. N. L. (2014). Biological sulfate removal from construction and demolition debris leachate: Effect of bioreactor configuration. *Journal of Hazardous Materials*, **269**, 38-44.
- Kim, Y. W., Han, K. C., Lee, W. K. (2003). Removal of organic and calcium hardness in liner paper wastewater using UASB and CO<sub>2</sub> stripping system. *Process Biochemistry*, **38**, 925-931.
- Muyzer, G., Stams, A. J. (2008). The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. *Nat Rev Microbiol*, **6**(6), 441-454.
- Nevatalo, L. M., Makinen, A. E., Kaksonen, A. H., & Puhakka, J. A. (2010). Biological hydrogen sulfide production in an ethanol-lactate fed fluidized-bed bioreactor. *Bioresour Technol*, **101**(1), 276-284.
- Postgate, J. R. (1979). *The sulphate-reducing bacteria*. Cambridge: University Press.
- Rutherford, P. M., Dudas, M. J., Samek, R. A. (1994). Environmental impacts of phosphogypsum. *Science of The Total Environment*, **149**(1-2), 1-38.

- Rzeczycka, M., Miernik, A., Markiewicz, Z. (2010). Simultaneous degradation of waste phosphogypsum and liquid manure from industrial pig farm by a mixed community of sulfate-reducing bacteria. *Pol J Microbiol*, **59**(4), 241-247.
- Sahinkaya, E., Dursun, N., Ozkaya, B., Kaksonen, A. H. (2013). Use of landfill leachate as a carbon source in a sulfidogenic fluidized-bed reactor for the treatment of synthetic acid mine drainage. *Minerals Engineering*, **48**(0), 56-60.
- Selvaraj, E. N. K. M. H. L. P. T. (1996). Recycling of FGD Gypsum to Calcium Carbonate and Elemental Sulfur Using Mixed Sulfate-reducing Bacteria with Sewage Digest as a Carbon Source. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, **66**, 365-374.
- Tayibi, H., Choura, M., Lopez, F. A., Alguacil, F. J., Lopez-Delgado, A. (2009). Environmental impact and management of phosphogypsum. *J Environ Manage*, **90**(8), 2377-2386.
- Wolicka, D. (2008). Biotransformation of phosphogypsum in wastewaters from the dairy industry. *Bioresour Technol*, **99**(13), 5666-5672.
- Wolicka, D., Borkowski, A. (2009). Phosphogypsum biotransformation in cultures of sulphate reducing bacteria in whey. *International Biodeterioration & Biodegradation*, **63**(3), 322-327.