



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI

CAMPUS ALTO PARAÓPEBA

ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

Estudo do crescimento de *Acidithiobacillus ferrooxidans* em lodo de reator UASB

AUTORA: ISABEL PEREIRA DA SILVA

ORIENTADORA: ISABEL CRISTINA BRAGA RODRIGUES

Ouro Branco - MG

Dezembro/2014



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI

CAMPUS ALTO PARAÓPEBA

ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

Estudo do crescimento de *Acidithiobacillus ferrooxidans* em lodo de reator UASB

Isabel Pereira da Silva

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado em cumprimento às exigências do Curso de Bacharelado em Engenharia de Bioprocessos da Universidade Federal de São João del-Rei.

Ouro Branco - MG

Dezembro/2014

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por me proteger e guiar meus passos nessa caminhada.

Aos **meus pais Sávio e Valéria**, por abraçarem mais esse desafio comigo. O apoio de vocês foi fundamental para que esse projeto se concretizasse. São vocês minha base e inspiração.

Ao **meu irmão Rodrigo e minha avó Neuza**, pelo carinho e incentivo. Mesmo distantes vocês se fizeram presentes em meus dias.

À **minha orientadora Isabel Cristina Braga Rodrigues**, pela dedicação, paciência e compreensão. Não tenho palavras para agradecer todos os ensinamentos compartilhados e todo o apoio sem o qual nada disso seria possível.

Ao **Laboratório de Bio&Hidrometalurgia da UFOP** e ao **Prof. Versiane Albis Leão** pela parceria e pelas análises químicas e à **Nayara** por gentilmente ceder as amostras de lodo.

À **Prof. Flávia Donária Reis da Silva**, pela colaboração e disponibilidade na análise dos resultados.

Aos **Professores Bruno Meireles Xavier e Marcel Otávio Cerri**, pela disponibilização de equipamentos que tornaram possível a condução dos experimentos.

Aos **Professores Daniela Leite Fabrino e José Carlos de Magalhães**, pela preocupação e interesse no andamento desse projeto.

À **minha amiga Camila Magalhães**, pelo companheirismo na caminhada acadêmica e colaboração neste trabalho.

Aos **meus amigos Iara Nunes, Bruno de Castro, Jordana Silveira, Bruna Raíssa e Pablo Hauck**, pela parceria e incentivo. Vocês se tornaram minha família longe de casa e fizeram dos meus anos em Ouro Branco momentos que sentirei saudades eternamente.

À **UFSJ** pelas oportunidades.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	i
SUMÁRIO	ii
LISTA DE FIGURAS.....	iii
LISTA DE TABELAS.....	iv
ABREVIATURAS E SIGLAS.....	v
RESUMO.....	vi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Saneamento Básico	4
2.2 Tratamento do Esgoto Sanitário	5
2.3 Geração e Disposição Final do Lodo	11
2.4 Uso Agrícola do Lodo de Esgoto	14
2.5 Presença de Metais no Lodo.....	16
2.6 Métodos de Remoção de Metais.....	17
2.7 Biolixiviação de Metais	18
2.8 Remoção de metais de lodo de esgotos por biolixiviação.....	22
3 OBJETIVOS.....	24
4 MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1 Micro-organismos, amostra de lodo e preparo do inóculo.....	25
4.2 Avaliação do crescimento da cultura de <i>At. ferrooxidans</i> em concentrações crescentes de lodo e em valores crescentes de pH.....	26
4.3 Enriquecimento do lodo do reator UASB em micro-organismos oxidantes de ferro “endógenos”.....	26
4.4 Caracterização química do lodo e das amostras biolixiviadas.....	27
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5.1 Obtenção de inóculo bacteriano a partir de cultura mista de micro-organismos acidófilos, predominantemente <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	28
5.2 Avaliação do crescimento da cultura de <i>At. ferrooxidans</i> em valores crescentes de concentração de lodo e de pH.....	29
5.3 Enriquecimento do lodo do reator UASB em micro-organismos oxidantes de ferro “endógenos”.....	32
5.4 Caracterização química do lodo e das amostras biolixiviadas	36
6 CONCLUSÕES.....	39
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	40
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.1:** Percentual de municípios com tratamento de esgoto, em ordem decrescente, em ordem decrescente, segundo as Unidades da Federação. (OLIVEIRA, 2010).....5
- Figura 2.2:** Diagrama das etapas do tratamento de esgoto em uma ETE (SABESB, 2014).6
- Figura 2.3:** Representação esquemática do funcionamento de um reator UASB, com destaque para as regiões de leito de lodo, manta de lodo e o separador trifásico. (VON SPERLING, 2005).....10
- Figura 2.4:** Diagrama de Venn-Euler mostrando as interações entre as várias ciências relacionadas à microbiologia e a biohidrometalurgia (TAKAMATSU, 1995). 19
- Figura 2.5:** Mecanismos de biolixiviação de minerais. (a) Mecanismo de contato direto; (b) Mecanismo indireto de contato e (c) Mecanismo indireto de não-contato (OLIVEIRA, 2010) 21
- Figura 5.1:** Coloração do meio de cultivo antes (frasco da esquerda) e depois do crescimento de *At. ferrooxidans* (frasco da direita), atingindo Eh maior que 600mV.. 28
- Figura 5.2:** Variação do Eh do cultivo do inóculo de *At. ferrooxidans* em função do tempo. 29
- Figura 5.3:** (a) Condição inicial do cultivo de enriquecimento do lodo. (b) Condição final do cultivo de enriquecimento de micro-organismos oxidantes de ferro e enxofre “endógenos”. (c) Condição final dos repiques da cultura de enriquecimento.....33
- Figura 5.4:** Variação do Eh do cultivo de enriquecimento de *At. ferrooxidans* endógena em função do tempo. 33
- Figura 5.5:** Condição do cultivo de controle do enriquecimento de *At. ferrooxidans* endógena do lodo após 6 dias de incubação. 35
- Figura 5.6:** Comparação da variação do Eh do cultivo de enriquecimento de *At. ferrooxidans* endógena e do cultivo de controle em função do tempo. 35

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1: Comparação da geração de lodo entre processos aeróbios e anaeróbios de tratamento de efluentes (Adaptado de CAMMAROTA, 2013)	12
Tabela 2.2: Dados comparativos dos custos de diferentes técnicas de disposição final do lodo (ANDREOLI <i>et al.</i> , 2006).....	14
Tabela 2.3: Limites máximos de concentração de patógenos no lodo destinado a agricultura (CONAMA, 2006).	15
Tabela 2.4: Limites máximos de concentração de substâncias inorgânicas no lodo destinado a agricultura (CONAMA, 2006).	15
Tabela 2.5: Alguns metais assimilados pelas plantas, suas necessidades e riscos, dependendo da concentração disponível (Adaptado de TSUTIYA, 1999).	17
Tabela 4.1: Composição do meio de cultura Norris.	25
Tabela 5.1: Valores de pH final e Eh iniciais e finais para os cultivos em pH crescente, durante a adaptação da cepa de <i>At. ferrooxidans</i>	30
Tabela 5.2: Valores de pH iniciais e finais e Eh iniciais e finais médios para os cultivos em cada concentração de matéria orgânica durante a adaptação da cepa de <i>At. ferrooxidans</i>	31
Tabela 5.3: Valores de Eh iniciais e finais dos repiques para manutenção da cultura enriquecida de micro-organismos oxidantes de ferro e enxofre “endógenos”.	34
Tabela 5.4: Valores de concentrações iniciais e finais de cromo, cobre, níquel e zinco presentes no lodo submetido a biolixiviação e seus controles abióticos, ensaios realizados 5% e 10% (p/v) de lodo.	
Erro! Indicador não definido.	
Tabela 5.5: Análise comparativa entre as concentrações iniciais e finais de alguns metais presentes na fração sólida do lodo e os limites máximos estabelecidos em CONAMA, 2006.....	38

ABREVIATURAS E SIGLAS

- ATP - Adenosina Tri-Fosfato
- CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente
- EPS - *Extracellular Polymeric Substances*
- ETE - Estação de Tratamento de Esgoto
- ICLEI - Conselho Internacional para Iniciativas Ambientais Locais
- ICP-OES - Espectrometria de Emissão Ótica em Plasma Indutivamente Acoplado
- NPM - Número Mais Provável
- ST - Sólidos Totais
- UASB - *Upflow Anaerobic Sludge Blanket* (Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente e Manta de Lodo)
- UFOP - Universidade Federal de Ouro Preto
- UFP - Unidade Formadora de Placa

RESUMO

A quantidade de esgoto tratado no país tem crescido e com ela a dificuldade em tratar e dispor adequadamente volumes cada vez maiores de lodo. O custo associado ao gerenciamento desse resíduo é um dos empecilhos para a concretização de um sistema ideal de saneamento básico. Métodos de disposição final do lodo capazes de oferecer uma boa relação de custo-benefício, como a reciclagem agrícola, têm ganhado espaço. Porém, alguns métodos de tratamento cuja realização é necessária para adequação do lodo à adição ao solo, com relação principalmente a concentração de metais presentes, acrescem o custo final associado à reciclagem agrícola, devido aos gastos com ácidos inorgânicos ou agentes oxidantes. Nesse sentido, os processos biológicos de remoção de metais, como a biolixiviação, apresentam aplicação mais vantajosa em comparação aos processos químicos. Micro-organismos como a bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans* realizam a biolixiviação dos metais ao oxidar Fe(II) a Fe(III) e também espécies reduzidas de enxofre, liberando no meio um agente oxidante e espécies ácidas. Sendo assim, a utilização do processo de biolixiviação por *At. ferrooxidans* para remoção dos metais presentes no lodo a fim de adequá-lo ao uso como fertilizante é uma alternativa promissora. Este trabalho procurou estudar o crescimento dessas bactérias, predominantes em uma cultura mista, em lodo produzido em reator UASB utilizado no tratamento de efluente industrial. A etapa de preparo do inóculo para a realização dos experimentos aconteceu satisfatoriamente. A obtenção de potenciais eletroquímicos com valores acima de 500mV comprovaram a presença de atividade microbiana. Durante a adaptação da cultura em condições crescentes de pH e em concentrações crescentes de matéria orgânica, pode-se observar bom desenvolvimento da *At. ferrooxidans* nas condições oferecidas. Comprovou-se a tendência de decaimento do pH com o processo de solubilização dos metais e também o acréscimo dos valores de Eh devido a reação de oxidação do Fe(II) na presença de micro-organismos no meio, diferentemente do ocorrido com os controles abióticos, em ambas as condições. Foi possível obter 100% de remoção de cobre e níquel, 98% de remoção de zinco e 70% de remoção de cromo pela ação da *At. ferrooxidans*. Dessa maneira, a solubilização de metais presentes no lodo catalisada por micro-organismos biolixiviantes como a *At. ferrooxidans* se mostrou uma alternativa interessante para adequação do lodo às exigências para sua utilização como fertilizante agrícola.

Palavras-chave: Biolixiviação, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, lodo anaeróbio, biossólido, reciclagem agrícola.

1 INTRODUÇÃO

O esgoto é formado pela mistura das águas residuais oriundas de residências e indústrias e até da água da chuva (ABNT, 1987). O seu tratamento inclui a remoção ou transformação de alguns de seus componentes de acordo com o seu grau de poluição, as exigências legais, o corpo hídrico receptor e os seus possíveis usos depois de tratado (CAMMAROTA, 2013).

Em 2008 o Brasil tratou aproximadamente 50% do esgoto coletado em seus municípios. Esse valor é relativamente baixo quando são considerados os impactos positivos de um sistema de saneamento básico bem consolidado sobre a qualidade de vida da população. Apesar de um longo caminho a ser percorrido, os números apontam uma tendência de melhoria dessa condição no país, devido principalmente à maior rigidez da legislação (BRASIL, 2007 e OLIVEIRA, 2010).

Através de processos físico-químicos e/ou biológicos, as Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) realizam o tratamento de esgoto em etapas designadas como tratamento preliminar, primário, secundário e terciário. Cada uma dessas etapas produz subprodutos sólidos chamados de lodo e que necessitam ser tratados antes de serem dispostos. Um exemplo é o lodo advindo dos tratamentos primário e secundário, cuja composição é rica em matéria orgânica, e seu tratamento e disposição final merecem atenção especial, uma vez que este excesso de matéria orgânica caracteriza um material potencialmente poluidor (VON SPERLING, 2005 e CAMMAROTA, 2013).

O tratamento do lodo pode ser dividido em uma etapa de redução de umidade e outra de estabilização. Na primeira etapa é retirada a água em excesso presente no material, reduzindo as dificuldades de logística envolvidas no transporte de grandes volumes. Já no processo de estabilização a meta é a redução no teor de matéria orgânica. Essa segunda etapa pode ser realizada biológica, química ou termicamente (LARA *et al.*, 1999).

Em relação à disposição final do lodo, existem métodos bastante utilizados, como a colocação em aterros sanitários, porém alguns também bastante problemáticos, como o despejo oceânico (VILLAR, 2003 e NETO, 2007). A tendência atual é o desenvolvimento

de métodos de disposição final do lodo que permitam o aproveitamento de suas propriedades conciliando ainda a preservação do meio ambiente (GODOY, 2013).

Com a tendência de aumento da quantidade de esgoto tratado, cresce também o desafio de gerenciamento do lodo produzido, principalmente com relação aos custos agregados ao tratamento e disposição. A reciclagem agrícola do lodo, ou seja, sua utilização como fertilizante é uma das opções mais interessantes de disposição final. O aproveitamento como fertilizante, se deve a presença de nutrientes em sua composição que são necessários às plantas, como nitrogênio, fósforo e potássio, mas também a sua capacidade de retenção de água (SAMPAIO, 2009).

O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) é responsável pela determinação das características do lodo que permitem sua disposição no solo para fins agrícolas. A concentração de micro-organismos patogênicos e metais pesados presentes têm limites bem estabelecidos (CONAMA, 2006). Apesar da presença natural de metais no solo advindos das formações rochosas e da necessidade de assimilação de alguns deles pelas plantas, em determinadas concentrações esses compostos podem se tornar prejudiciais. O custo associado às técnicas de remoção de metais é um dos principais obstáculos para uma maior aplicabilidade do uso agrícola do lodo (TSUTIYA, 1999 e CAMMAROTA, 2013).

Dentre as técnicas de remoção de metais existem os métodos químicos, como a solubilização desses metais utilizando ácidos, a chamada lixiviação química. Outra opção, financeiramente mais viável, para remover metais são os processos biológicos, através dos quais micro-organismos atuam transformando ou solubilizando esses compostos (VILLAR, 2003).

A biolixiviação é o processo de lixiviação de metais realizado por micro-organismos (TAKAMATSU, 1995). Os micro-organismos capazes de realizar a biolixiviação de metais oxidam compostos metálicos, como os sulfetos, ao utilizá-los como fonte de energia (OLIVEIRA *et al.*, 2010). A bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans* é a principal representante de tais micro-organismos, com ambiente ótimo de crescimento em condições próximas a temperatura de 30°C e pH 2,0 (MOURA, 2006 e OLIVEIRA, 2010).

A possibilidade de associar a remoção de metais através da biolixiviação à disposição do lodo devidamente tratado ao solo para fim agrícola se mostra uma alternativa econômica e ambientalmente favorável quando comparada aos outros processos de remoção de metais e às outras técnicas de disposição do lodo (VILLAR, 2003).

Este trabalho propôs adaptar uma cultura mista de micro-organismos acidófilos, oxidantes de ferro e enxofre, predominante *Acidithiobacillus ferrooxidans*, cultivada sem adição de matéria orgânica, ao lodo anaeróbio oriundo de um reator UASB de escala laboratorial, tratando efluente industrial rico em sulfato. Esta adaptação teve como principal objetivo analisar a potencialidade de crescimento destes micro-organismos em matéria orgânica, bem como de solubilização dos metais presentes nestas amostras. Além disso, este trabalho procurou avaliar a possibilidade de enriquecer a amostra de lodo em micro-organismos oxidantes de ferro e enxofre endógenos, para que em futuras aplicações da tecnologia fosse possível evitar o longo processo de adaptação e também a necessidade de manutenção de cepas para inoculação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Saneamento Básico

A oferta de um sistema apropriado de saneamento básico tem influência na qualidade de vida das pessoas, trazendo consigo a manutenção da qualidade dos recursos hídricos e consequentemente reduzindo os prejuízos à saúde da população (SILVA *et al.*, 2007). Segundo a Lei nº 11.445, de 5 de janeiro de 2007, a chamada de Lei do Saneamento Básico, o esgotamento sanitário básico inclui a coleta, o transporte, o tratamento e a disposição final adequada do esgoto.

A Pesquisa Nacional de Saneamento Básico - PNSB 2008 mostra que o número de municípios que realizaram o tratamento do esgoto sanitário passou de 20,2% em 2000 para 28,5% em 2008, um percentual que, apesar do aumento, é relativamente baixo, visto que 55,2% dos municípios já realizam a coleta do esgoto doméstico. Dentre as unidades da federação, com exceção do Distrito Federal, seis delas apresentaram percentuais de municípios que realizam o tratamento do esgoto coletado acima da média nacional, a saber, São Paulo, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Ceará, Mato Grosso do Sul e Paraná, como mostra a Figura 2.1 (OLIVEIRA, 2010).

Enfim, ainda existe um longo caminho para se chegar à condição ideal de tratamento de todo esgoto gerado no país. Paralelo aos esforços para ampliar o tratamento destas águas residuárias, novos estudos devem ser conduzidos no sentido de tratar e destinar o lodo gerado neste processo, de forma que o mesmo possa ser reutilizado de forma útil, como nos processos de reciclagem agrícola.

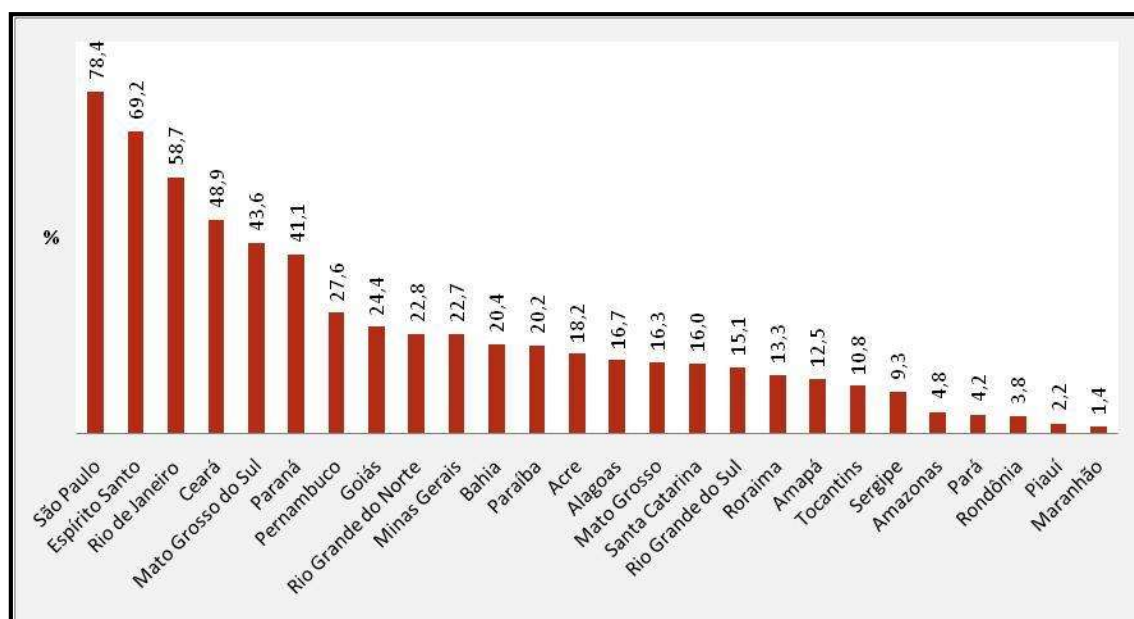


Figura 2.1: Percentual de municípios com tratamento de esgoto, em ordem decrescente, segundo as Unidades da Federação. (OLIVEIRA, 2010)

2.2 Tratamento do Esgoto Sanitário

Define-se como esgoto sanitário todo e qualquer volume de água residuária não aproveitável, proveniente dos usos domésticos ou industriais da água, ou ainda da água da chuva, cuja coleta é feita pelas redes gerais (ABNT, 1987).

As composições quantitativas e qualitativas do esgoto variam de acordo com o uso da água, com a composição da água de abastecimento e principalmente com os costumes e condições socioeconômicas da população. De modo geral, o esgoto é composto em sua quase totalidade por uma fração líquida, responsável basicamente por carrear os componentes da fração sólida (ICLEI - BRASIL, 2010). A caracterização do esgoto é fundamental para a realização de tratamentos específicos e eficientes, de acordo com seu grau de poluição. A definição do tratamento a ser realizado depende ainda das exigências legais, do corpo hídrico receptor e dos possíveis usos do efluente tratado (CAMMAROTA, 2013).

O tratamento de esgotos acontece nas Estações de Tratamento de Esgotos (ETEs), em etapas que costumam ser definidas como tratamento preliminar, primário, secundário

(Figura 2.2) e, eventualmente, terciário, que são aplicadas ao tratamento da fase líquida. Além disso, nas ETEs deve ocorrer também o tratamento da fase sólida (lodo) provenientes dos esgotos e do próprio tratamento da fase líquida. Em cada uma dessas etapas, são realizadas uma ou mais operações físico-químicas ou processos biológicos através dos quais são removidos ou transformados componentes como sólidos em suspensão, óleos e graxas, metais pesados, matéria orgânica, micro-organismos patogênicos, dentre outros (CAMMAROTA, 2013).

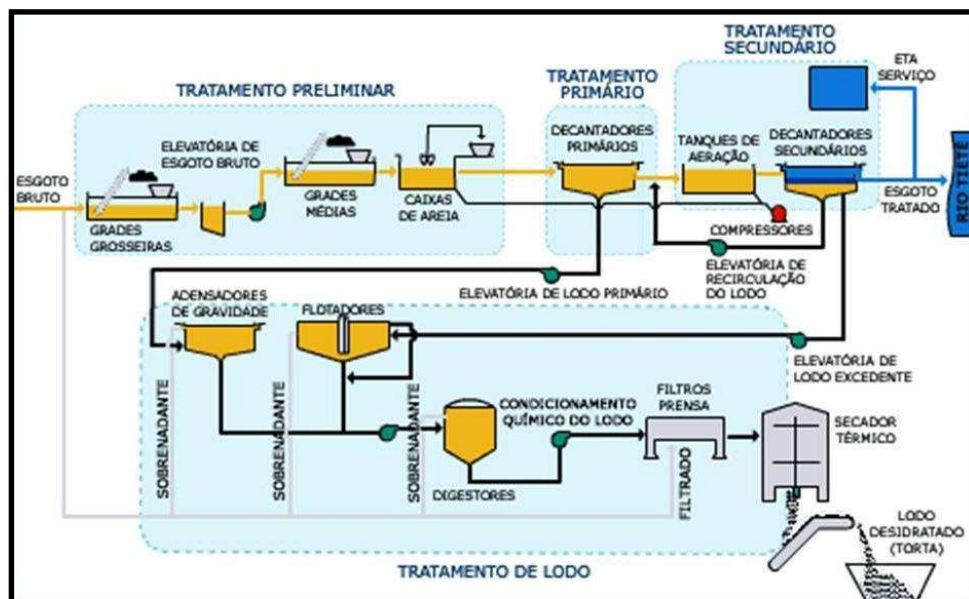


Figura 2.2: Diagrama das etapas do tratamento de esgoto em uma ETE (SABESB, 2014).

O tratamento preliminar é responsável pela retirada de sólidos grosseiros e areia do efluente bruto, além de contar com medidores de vazão (MENEZEZ; SILVINO e NETO, 2006). O gradeamento é a primeira operação física utilizada no tratamento preliminar, no qual grades com aberturas determinadas impedem a passagem dos sólidos capazes de causar danos, como entupimento, ao sistema de tratamento (GIORDANO, 2009). Em seguida, os desarenadores têm a função de separar a areia presente no esgoto através da sedimentação e evitar assim o assoreamento e o desgaste precoce dos equipamentos subsequentes do sistema de tratamento (MENEZEZ; SILVINO e NETO, 2006).

Os decantadores são os principais constituintes da etapa de tratamento primário. Eles são utilizados para remover sólidos suspensos e sedimentáveis, incluindo parte da matéria orgânica do efluente. Estes permitem a passagem lenta do efluente para que haja tempo suficiente para a sedimentação dos sólidos (ICLEI - BRASIL, 2010). A

coagulação/floculação, a flotação e a precipitação química também são opções de tratamentos primários de efluentes (CAMMAROTA, 2013).

Também chamado de tratamento biológico, o tratamento secundário utiliza micro-organismos para a remoção da carga orgânica dissolvida no efluente. Esse processo ocorre de forma controlada em sistemas simples como as lagoas facultativas, até em operações mais complexas nos bioreatores (MENEZEZ; SILVINO e NETO, 2006), de maneira a acelerar os mecanismos de autodepuração que ocorrem nos corpos receptores. A base do tratamento biológico é a utilização da matéria orgânica presente nos esgotos como fonte de energia para diversos organismos, principalmente bactérias. Estes, por sua vez, convertem a matéria orgânica em gás carbônico, água e material celular e também metano nos casos da biodegradação em condições anaeróbias (VON SPERLING, 2005).

Nas lagoas de estabilização acontece a oxidação aeróbia ou a fermentação anaeróbia da matéria orgânica pela ação de bactérias. Quando não há oxigênio dissolvido no sistema diz-se que esse sistema é uma lagoa anaeróbia, onde a fermentação anaeróbia ocorre em duas etapas chamadas de digestão ácida e fermentação metânica (metanogênese). Na digestão ácida, bactérias facultativas convertem compostos orgânicos complexos em outros mais simples, como os ácidos orgânicos. Depois, bactérias metanogênicas transformam esses ácidos em metano e dióxido de carbono, durante a metanogênese (ANDRADE, 2006).

Considerada o sistema mais simples de lagoas de estabilização, a lagoa facultativa fornece condições para que a matéria orgânica seja decomposta por bactérias facultativas. Na parte superior da lagoa, onde há a penetração de luz solar, algas são responsáveis por realizar fotossíntese e fornecer oxigênio para a metabolização aeróbia dos compostos orgânicos pelas bactérias. Por sua vez, as algas utilizam na fotossíntese o dióxido de carbono produzido pelo metabolismo bacteriano. Já no fundo da lagoa, com a ausência de penetração da luz solar, e conseqüentemente de oxigênio, os compostos orgânicos que sedimentam são metabolizados anaerobicamente (ICLEI - BRASIL, 2010). Quando um aerador mecânico é adicionado à superfície de uma lagoa facultativa para o fornecimento de oxigênio em substituição as algas, diz-se que essa é uma lagoa facultativa aerada. Nesse tipo de lagoa, a aeração não promove a mistura completa dos sólidos e efluentes, ela apenas acelera o processo de dissolução do oxigênio. Dessa forma, a lagoa facultativa

aerada permite que ainda haja sedimentação de matéria orgânica para que ocorra a decomposição anaeróbia no fundo da lagoa (ANDRADE, 2006 e MENEZEZ; SILVINO e NETO, 2006).

Quando sistemas mecânicos de aeração promovem a suspensão de toda a matéria orgânica e micro-organismos presentes no efluente, impedindo a sedimentação dos mesmos, a lagoa de estabilização recebe o nome de lagoa de mistura completa. O maior contato entre os micro-organismos e os compostos orgânicos, propiciado pela mistura completa, reduz o tempo de residência do efluente nessa lagoa em comparação com as demais. Porém, como a biomassa fica em suspensão e sai da lagoa junto com o efluente, exige-se a utilização de uma lagoa de decantação para separação da mesma (ICLEI - BRASIL, 2010).

Como alternativa às lagoas de estabilização, existe o processo de lodos ativados. Nesse sistema, o metabolismo da matéria orgânica acontece em um reator e, semelhantemente às lagoas de mistura completa, o oxigênio é fornecido através de aeradores mecânicos. Porém, os micro-organismos envolvidos nesse processo tendem a crescer e formar flocos, chamados flocos biológicos. Em um tanque de decantação acoplado ao sistema, os flocos biológicos se sedimentam e são retornados ao reator. Dessa maneira, a concentração de micro-organismos é aumentada no reator e conseqüentemente também a eficiência de remoção da carga orgânica do efluente (GIORDANO, 2009 e ICLEI - BRASIL, 2010). O lodo produzido neste tipo de reator é composto, principalmente, por micro-organismos ainda com atividade biológica, desta forma, o mesmo deve passar por processo de estabilização antes da disposição no ambiente.

Ainda como opções de tratamento secundário de efluentes existem os filtros biológicos ou biofiltros. Nos biofiltros aeróbicos, o efluente a ser tratado é aspergido sobre um tanque preenchido com material inerte, geralmente brita. Os micro-organismos tendem a aderir a esse material inerte formando biofilmes. A remoção dos compostos orgânicos acontece através do contato do efluente, ao escoar pelo tanque, com os micro-organismos formadores do biofilme. Costuma-se fazer a introdução do ar ao sistema pela parte inferior do tanque a fim de favorecer o metabolismo aeróbico. Já nos biofiltros anaeróbicos, utiliza-se um tanque fechado, o efluente a ser tratado passa em fluxo ascendente pelo tanque de forma que os espaços vazios sejam preenchidos com líquido. Esse último costuma ser utilizado após as chamadas fossas sépticas, onde parte da matéria orgânica tende a

sedimentar e ser digerida anaerobicamente e a fração sobrenadante contendo outra parte da matéria orgânica é enviada ao tratamento em biofiltros anaeróbicos (MENEZEZ; SILVINO e NETO, 2006; GIORDANO, 2009 e ICLEI - BRASIL, 2010).

Por fim, porém não menos importante, existem os reatores anaeróbios. Dentre eles, os reatores UASB são os mais comumente utilizados. Nestes reatores, a biomassa cresce dispersa no meio, esta biomassa pode formar grânulos microbianos que auxiliam no aumento da eficiência do sistema, mas não são fundamentais para o funcionamento do reator. O termo manta de lodo é justificado devido à alta concentração de biomassa na parte inferior e média do reator, como o fluxo do efluente é ascendente, o contato do mesmo com a biomassa é imediato (VON SPERLING, 2005).

As principais características desse tipo de reator são a possibilidade de utilização do mesmo sem a realização da etapa de tratamento primário e a presença de um separador trifásico em sua parte superior. Esse separador trifásico é responsável por permitir a saída do efluente tratado, que atravessou o reator em fluxo ascendente, e impedir que a biomassa também saia, evitando a contaminação do efluente e mantendo alta a quantidade de micro-organismos no reator. Além disso, o gás formado no processo de digestão anaeróbia é direcionado para o centro do separador, com o auxílio de defletores no interior do reator e coletado na parte superior (Figura 2.3). Esse gás, rico em metano, é chamado de biogás, possui alto poder calorífico e pode ser utilizado como fonte de energia (MENEZEZ; SILVINO e NETO, 2006 e ICLEI - BRASIL, 2010). Devido à elevada retenção de sólidos, a estabilização da biomassa acontece no próprio reator, não havendo necessidade de etapa posterior de estabilização de lodo para disposição do mesmo no ambiente (VON SPERLING, 2005).

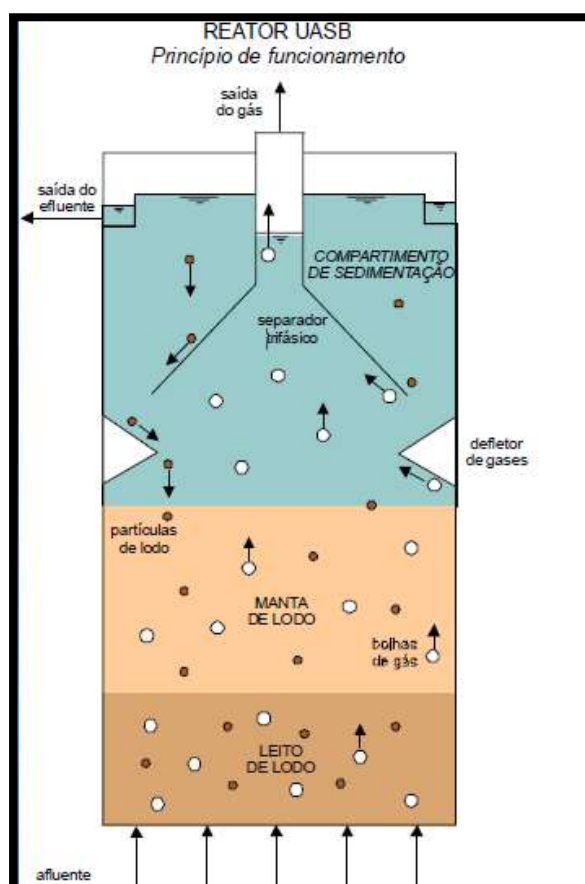


Figura 2.3: Representação esquemática do funcionamento de um reator UASB, com destaque para as regiões de leito de lodo, manta de lodo e o separador trifásico. (VON SPERLING, 2005)

A última etapa do tratamento de efluentes, chamada de tratamento terciário ou avançado, é realizada para aumentar a eficiência do tratamento feito nas etapas anteriores e, principalmente, para remover poluentes não removidos no tratamento biológico. Nesta etapa, são retirados compostos orgânicos ainda presentes, micropoluentes, coloração, sais minerais e nutrientes (nitrogênio e fósforo). As lagoas de maturação são sistemas biológicos comuns no tratamento terciário. Elas são utilizadas após os tratamentos biológicos da etapa de tratamento secundário e permitem que os micro-organismos continuem agindo sobre o efluente para a decomposição da matéria orgânica, eliminação de fósforo e nitrogênio (nutrientes) e de organismos patogênicos. Os processos de tratamento terciário podem consistir ainda de processos físicos, como ultrafiltração e osmose reversa, ou, ainda, processos químicos, como os processos oxidativos avançados (CAMMAROTA, 2013). O tratamento terciário é pouco comum em ETEs de tratamento de esgotos domésticos.

2.3 Geração e Disposição Final do Lodo

Durante todas as etapas do tratamento de efluentes são gerados subprodutos sólidos e o tratamento destes é etapa essencial em qualquer ETE, para que os mesmos sejam dispostos no meio ambiente de maneira adequada (CAMMAROTA, 2013). Estes subprodutos sólidos são comumente chamados de lodo e a composição do mesmo é, principalmente, função do sistema de tratamento utilizado na fase líquida (VON SPERLING, 2005).

O material sólido proveniente do tratamento preliminar é constituído por grandes partículas de rejeitos que são descartadas no sistema de esgotamento sanitário, como papel, papelão e outras embalagens, e também por areia proveniente dos desarenadores, normalmente, este material é enviado diretamente para os aterros sanitários. O lodo proveniente do tratamento primário (lodo primário) e do tratamento secundário (lodo secundário) precisam ter tratamento e destinação adequados, uma vez que possuem alto teor de matéria orgânica. Além disso, o lodo secundário é composto principalmente pela biomassa gerada nos processos de decomposição da matéria orgânica e podem inclusive conter biomassa ainda em atividade, como é o caso do sistema de lodos ativados. Nos processos de tratamento anaeróbio, como o caso do reator UASB, esta biomassa não é mais ativa, caracterizando o chamado lodo estabilizado (VON SPERLING, 2005).

Cada etapa e tipo de tratamento de esgotos, dependendo até da vazão de esgoto tratado, gera lodo com composições e em quantidades diferentes (BARBOSA e FILHO, 2006), como é o caso dos tratamentos biológicos apresentados na Tabela 2.1.

Tabela 2.1: Comparação da geração de lodo entre processos aeróbios e anaeróbios de tratamento de efluentes (Adaptado de CAMMAROTA, 2013)

	Tipo de tratamento	Método de retenção de lodo	Geração de lodo
AERÓBIOS	Lagoas aeradas	-	Muito baixa
	Lodos ativados	Tanque de decantação com retorno de lodo	Alta
	Biofiltros	Imobilização sobre suporte (brita) combinada com retenção nos interstícios do filtro	Baixa
	Lagoas de estabilização aeróbias	-	Insignificante
	Lagoas facultativas	-	Insignificante
ANAERÓBIOS	Lagoas anaeróbias	-	Insignificante
	Filtro anaeróbio	Biomassa granular e compartimento interno de decantação	Insignificante
	UASB	Biomassa granular e compartimento interno de decantação	Muito baixa

Pesquisas como a PNSB 2008 provam que a quantidade de esgoto tratado no país tem aumentado e, em consequência disso, o gerenciamento de volumes cada vez maiores de lodo se tornou um desafio no tratamento de esgotos, principalmente com relação aos custos agregados ao tratamento e disposição.

O lodo é composto por água, substâncias orgânicas e inorgânicas, e estas podem variar de substâncias prejudiciais, como metais pesados, à substâncias benéficas, como micro e macronutrientes (SANTOS, 2009). As etapas do tratamento do lodo visam a estabilização do mesmo, com redução de sólidos, principalmente aqueles prejudiciais ao meio ambiente e à saúde humana, e a redução de volume, retirando grande parte da água presente (LARA *et al.*, 1999).

Com o processo de estabilização do lodo reduz-se significativamente características como mau odor, atração de insetos e até patógenos. Porém, antes de compreender os processos de estabilização em si, é preciso estar ciente da possibilidade de uma estabilização prévia do lodo durante o próprio tratamento do efluente. Chamado de lodo digerido, o lodo produzido durante o tratamento biológico contém cerca de 25% a menos de sólidos

voláteis em comparação ao lodo produzido durante o tratamento primário, que é conhecido como lodo cru ou bruto. Dependendo da disponibilidade de oxigênio no processo de tratamento que deu origem ao lodo é que se define a forma de estabilização biológica do mesmo, se por digestão aeróbia ou anaeróbia. Outras formas de estabilizar o lodo são química ou termicamente (LARA *et al.*, 1999 e VILLAR, 2003).

A redução da umidade presente no lodo é de substancial importância, principalmente quando se pretende transportá-lo e grandes volumes tornam-se um empecilho em relação a custos. Esse processo costuma ser realizado em duas etapas: adensamento e secagem/desidratação. Na primeira etapa eleva-se a quantidade de sólidos através de processos de adensamento por gravidade ou por flotação, no caso de lodo em excesso retirado de sistemas de lodo ativado. Já a etapa de secagem é feita de maneira natural ou mecânica, dependendo principalmente da quantidade de material a ser desidratado e do volume final que se deseja alcançar. Leitos de secagem e lagoas de lodo são exemplos de sistemas de secagem naturais, enquanto centrífuga, prensa desaguadora contínua e filtro prensa podem ser usados para secar o lodo mecanicamente (LARA *et al.*, 1999).

A disposição final do lodo tratado costuma ser feita em aterros sanitários, no oceano, no solo ou através da incineração. Os aterros sanitários, apesar de serem frequentemente o destino final do lodo, possuem alto custo de manutenção e potencial poluidor, principalmente em relação aos recursos hídricos com a formação de percolados, além de trazerem consigo o perigo dos animais e insetos vetores de doenças que costumam se proliferar nesses ambientes (NETO, 2007). Já a disposição oceânica foi banida em alguns países, como EUA e países da União Européia, em decorrência do seu alto risco de contaminação em massa (VILLAR, 2003). A opção de acondicionamento final do lodo no solo é um das melhores alternativas, visto que ele, desde que atenda aos requisitos legais, pode se tornar um excelente condicionador de solo graças a suas características físico-químicas. Por fim, a incineração, além de ser um poluidor atmosférico, produz um novo resíduo, as cinzas (LARA *et al.*, 1999). A diferença de custo entre os métodos de disposição final do lodo exerce importante influência sobre a escolha entre cada um deles (Tabela 2.2) (GODOY, 2013).

Tabela 2.2: Dados comparativos dos custos de diferentes técnicas de disposição final do lodo (ANDREOLI *et al.*, 2006)

Método de disposição final	Custo (US\$/t)
Aterros sanitários	20 a 60
Oceano	12 a 50
Solo	20 a 125
Incineração	55 a 250

Entretanto, estudos têm sido realizados buscando desenvolver processos cujo lodo de esgoto seja matéria-prima, como é o caso do tijolo ecológico e outros produtos cerâmicos, como telhas, tubos e lajotas, ou ao menos seja utilizado de maneira a aproveitar suas propriedades e contribuir para preservar o meio ambiente, como na recuperação de solos degradados ou mesmo como fertilizante na agricultura (GODOY, 2013 e RUBIM, 2013).

2.4 Uso Agrícola do Lodo de Esgoto

Biossólido é basicamente o lodo de esgoto já tratado e em condições para ser aplicado no solo. Dentre os nutrientes presentes no biossólido podem estar nitrogênio, fósforo e potássio, fazendo com que a utilização do mesmo como fertilizante, na chamada reciclagem agrícola, seja uma das alternativas mais atraentes de aproveitamento do mesmo, com redução dos gastos com fertilizantes minerais e com os métodos de disposição de lodo. Além disso, o biossólido possui certa capacidade de retenção de água e pode conter micro-organismos benéficos ao solo (SAMPAIO, 2009).

De acordo, principalmente, com a origem do efluente, a quantidade de nutrientes presentes nos biossólidos pode variar. Quando a concentração de algum nutriente nos biossólidos é insuficiente, torna-se necessária a suplementação com fertilizante mineral. Em contrapartida, a concentração em excesso de um nutriente, como nitrogênio e fósforo, pode ser prejudicial contribuindo, por exemplo, com o processo de eutrofização de rios e lagos. Dessa maneira, é preciso ter atenção à forma e quantidade de aplicação do mesmo no solo (NETO, 2007 e SANTOS, 2009).

A Resolução nº 375, do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), de 29 de agosto de 2006, expõe os critérios para que o lodo de esgoto possa ser utilizado na

agricultura. Ela destaca os cuidados necessários com a presença de organismos patogênicos e compostos potencialmente tóxicos. As definições do CONAMA para os limites máximos de concentração de patógenos e de substâncias inorgânicas no lodo destinado a agricultura são apresentados nas Tabelas 2.3 e 2.4, respectivamente. Essa resolução do CONAMA restringe ainda a utilização dos bio sólidos em algumas áreas, principalmente de as de preservação ambiental.

Tabela 2.3: Limites máximos de concentração de patógenos no lodo destinado a agricultura (CONAMA, 2006).

Patógeno	Concentração máxima
Coliformes termotolerantes	$< 10^3$ NMP/g de ST
Ovos viáveis de helmintos	$< 0,25$ ovo/g de ST
<i>Salmonella</i>	ausência em 10g de ST
Vírus	$< 0,25$ UFP/g de ST

(*) NPM = número mais provável; ST = sólidos totais; UFP = unidade formadora de placa.

Tabela 2.4: Limites máximos de concentração de substâncias inorgânicas no lodo destinado a agricultura (CONAMA, 2006).

Substância inorgânica	Concentração máxima (mg/kg, base seca)
Arsênio	40
Bário	1300
Cádmio	39
Chumbo	300
Cobre	1500
Cromo	1000
Mercúrio	17
Molibdênio	50
Níquel	420
Selênio	100
Zinco	2800

2.5 Presença de Metais no Lodo

A etapa biológica do tratamento de efluentes, em muitos casos, é responsável pela retirada quase total dos metais presentes na fase líquida do efluente. Durante essa fase, os metais presentes no efluente migram da fase líquida para o lodo, uma vez que, apresentam uma forte tendência a adsorverem, precipitarem ou formarem complexos (VILLAR, 2003). Advindos dos rejeitos domésticos, industriais ou das águas pluviais, a preocupação com a presença dos metais no biossólidos se deve, principalmente, às ligações clandestinas de pequenas fontes de contaminação como tintas e baterias, apesar da existência de responsabilidade legal da indústria geradora do efluente em tratá-lo antes do descarte nas redes de coleta gerais (LARA *et al.*, 1999).

Alguns metais estão presentes naturalmente no solo, como é o caso daqueles que compõem as rochas. Já os biossólidos costumam adicionar ao solo metais como cobre, níquel, cádmio, zinco, chumbo e cromo, dependendo do efluente gerador do lodo e até da técnica de tratamento utilizada (TSUTIYA, 1999 e VILLAR, 2003).

As plantas são capazes de assimilar e utilizar alguns metais para se desenvolverem, na forma de micro ou macronutrientes. Elas conseguem também assimilar outros metais, chamados de elementos não essenciais, como mostrado na Tabela 2.5 (TSUTIYA, 1999). Porém, em certas concentrações, esses metais passam a oferecer riscos, pequenos ou até potenciais. A presença em excesso de metais pesados compromete o desenvolvimento tanto da planta, quanto dos processos que ocorrem no solo, além do risco de contaminação dos lençóis freáticos e do acúmulo nos níveis da cadeia alimentar (CAMMAROTA, 2013).

Tabela 2.5: Alguns metais assimilados pelas plantas, suas necessidades e riscos, dependendo da concentração disponível (Adaptado de TSUTIYA, 1999).

Metal	Necessidade da planta	Riscos
Alumínio	Não essencial	Pequeno
Cádmio	Não essencial	Perigoso
Chumbo	Não essencial	Perigoso
Cobre	Micronutriente	Perigoso
Cromo	Não essencial	Perigoso
Ferro	Micronutriente	Pequeno
Manganês	Micronutriente	Pequeno
Mercúrio	Não essencial	Perigoso
Níquel	Micronutriente	Perigoso
Zinco	Micronutriente	Perigoso

Não basta que os metais estejam presentes no solo, é preciso ainda que eles estejam disponíveis às plantas para serem assimilados, o que é definido por processos de adsorção, complexação, precipitação, oxidação e redução. O pH tem forte influência sobre a mobilidade dos metais do lodo para o solo e do solo para as plantas, sendo preferível a manutenção do mesmo próximo da neutralidade, tendendo à alcalinidade (LARA *et al.*, 1999), uma vez que a maioria dos metais é mais solúvel em pHs mais ácidos.

Vistos os riscos de contaminação do solo, da água, das plantas, do homem e demais animais causados pela presença de metais pesados no lodo, é indispensável a remoção dos mesmos para o aproveitamento agrícola do lodo como bioestabilizado (SAMPAIO, 2009).

2.6 Métodos de Remoção de Metais

Os métodos utilizados para a remoção de metais do lodo sanitário visam, principalmente, reduzir os prejuízos causados pelos mesmos quando em excesso, mas também a possibilidade de recuperação de alguns deles, cujo valor comercial é compensatório. As técnicas de remoção por processos químicos utilizam principalmente ácidos inorgânicos, como H_2SO_4 e HCl , combinados ou não com temperaturas mais elevadas. Para minimizar o consumo de ácidos inorgânicos pode ser associado o uso de agentes oxidantes, como ozônio, peróxidos ou compostos de $Fe(III)$. Quando os metais são solubilizados sob a ação

de ácidos este processo é chamado de lixiviação. Fatores como tempo de contato, pH e concentração de sólidos totais também influenciam no processo. Os principais metais solubilizados através dessas técnicas são alumínio, cobre, zinco e níquel (TAKAMATSU, 1995 e VILLAR, 2003).

Em contrapartida aos processos químicos, os processos biológicos de remoção de metais têm sido estudados e trazem consigo uma série de vantagens como (i) custo reduzido de seus reagentes, como sulfato ferroso; (ii) baixo consumo de ácidos inorgânicos devido à possibilidade de geração de ácido durante o metabolismo de certos micro-organismos e, ainda, (iii) a possibilidade de ocorrerem mecanismos de adsorção, oxidação, redução e metilação. Assim, alguns micro-organismos específicos conseguem transformar os metais presentes no lodo, tornando-os mais solúveis, através da biolixiviação, ou ainda removê-los através da biosorção ou da bioacumulação (VILLAR, 2003 e CAMMAROTA, 2013).

2.7 Biolixiviação de Metais

A chamada biolixiviação, ou lixiviação bacteriana, ou ainda biossolubilização relaciona conceitos de diversas áreas da ciência, tais como a microbiologia e a hidrometalurgia (Figura 2.4), sendo definida por PRADHAN *et al.* (2008) como um processo de dissolução de sulfetos minerais, resultado da ação de um grupo de micro-organismos.

As características comuns aos micro-organismos que realizam a biolixiviação são a capacidade de se desenvolverem em meios ácidos, a obtenção de energia a partir da oxidação de compostos inorgânicos (ferro e enxofre, principalmente) e a capacidade de utilizarem o CO₂ como fonte de carbono para realizar a biossíntese de todos os constituintes celulares. Quanto à temperatura de desenvolvimento, têm-se micro-organismos mesófilos, termófilos moderados e termófilos extremos, podendo as temperaturas mais elevadas acelerarem o processo de biolixiviação em certos minerais (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

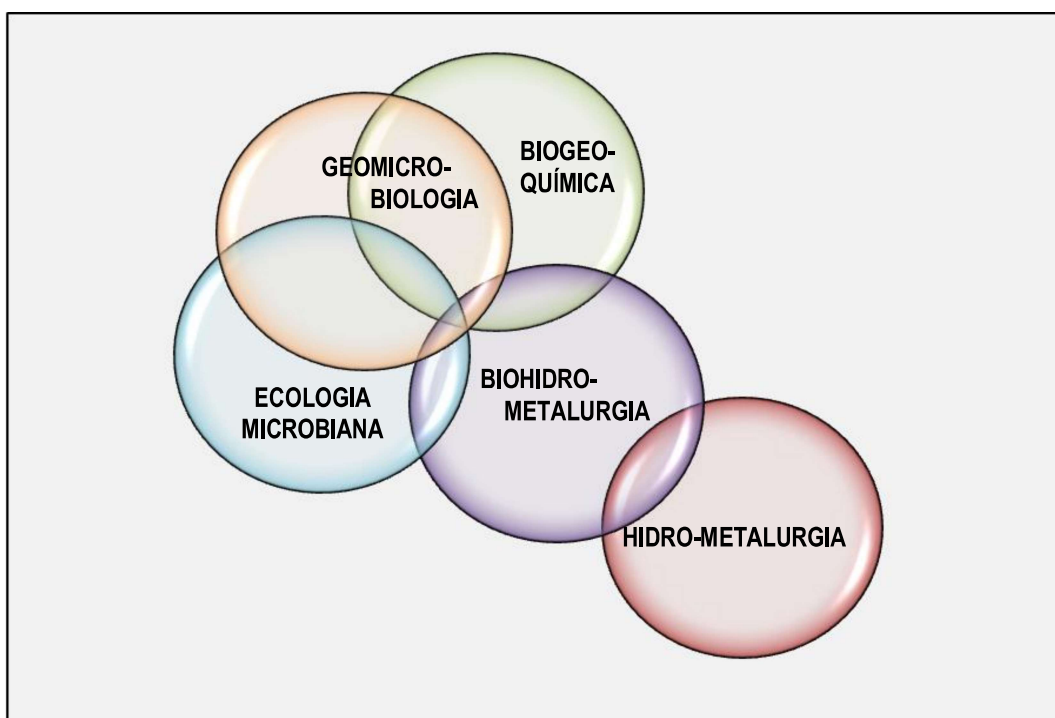


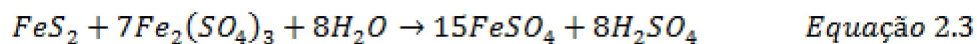
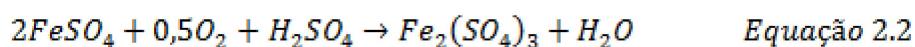
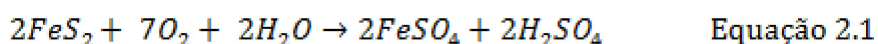
Figura 2.4: Diagrama de Venn-Euler mostrando as interações entre as várias ciências relacionadas à microbiologia e a biohidrometalurgia (TAKAMATSU, 1995).

Bactérias do gênero *Thiobacillus* são capazes de realizar a biolixiviação de metais e atualmente foram divididas em *Acidithiobacillus*, *Thermithiobacillus* e *Halothiobacillus*. Dentro dessa nova classificação, as bactérias *Acidithiobacillus ferrooxidans* e *Acidithiobacillus thiooxidans* são comumente utilizadas nos processos de biolixiviação de sulfetos metálicos. Sendo comum a utilização, principalmente, de culturas mistas (DONOVAN e ANN, 2000).

O principal micro-organismo mesófilo envolvido na biolixiviação é a bactéria *Acidithiobacillus ferrooxidans* que apresenta a forma de bastonete com dimensões médias de 0,5 a 0,6µm de diâmetro por 1,0 a 2,0µm de comprimento, podendo ocorrer sozinha ou em pares, raramente em cadeias pequenas (OLIVEIRA, 2010). Esse micro-organismo é classificado como gram-negativo, não patogênico e não esporulante. Os bastonetes possuem um flagelo polar e sua reprodução ocorre por divisão binária simples. São micro-organismos obrigatoriamente quimiolitotróficos, uma vez que, utilizam como fonte de energia substratos estritamente inorgânicos, como íons Fe(II) e formas reduzidas de compostos de enxofre, incluindo os sulfetos metálicos. São obrigatoriamente acidofílicos e

aeróbios, seu crescimento se dá em uma faixa de pH de 1,4 a 4,0 e de temperatura de 5 a 35°C, mas as condições ótimas estão ao redor de 30°C e pH 2,0 (MOURA, 2006).

Os micro-organismos atuantes na biolixiviação exercem basicamente a ação de catalisadores de reações de oxidação de diversos sulfetos. O sulfato férrico, por exemplo, é um agente lixiviante natural também capaz de solubilizar sulfetos. Porém, a formação do sulfato férrico, em meio abiótico, acontece através de reações lentas mediadas por água e oxigênio atmosférico. Dessa maneira, a etapa de solubilização dos metais também se dá de maneira bastante demorada, conforme exemplificado nas reações de formação do sulfato férrico (equações 2.1 e 2.2) e de oxidação da pirita (FeS_2) (equação 2.3) (OLIVEIRA *et al.*, 2010). No entanto, a formação do sulfato férrico quando catalisada por micro-organismos, que utilizam a oxidação do Fe(II) a Fe(III) como fonte de energia, é rápida e descontrolada, fazendo com que a solubilização de metais também seja, em consequência, catalisada (MADIGAN; MARTINKO e PARKER, 2010).



Os mecanismos de biolixiviação costumam ser divididos em mecanismo de contato direto, mecanismo indireto de contato e mecanismo indireto de não-contato. No primeiro deles, representado em (a) na Figura 2.5, a célula microbiana tem contato com a superfície do mineral e através de ataques enzimáticos oxida os sulfetos metálicos. Já no mecanismo indireto de contato (b), o micro-organismo excreta uma substância polimérica (*EPS - Extracellular Polymeric Substances*) que o confere carga positiva e permite sua ligação ao mineral que possui a superfície geralmente carregada negativamente, a oxidação do Fe(II), a partir do metabolismo microbiano, ocorrerá na interface mineral/micro-organismo e o Fe(III) formado será o agente oxidante do mineral. Por fim, na ação indireta de não-contato (c) os eventos são os mesmos que ocorrem no mecanismo indireto de contato, porém no seio da solução a partir da microbiota dispersa (OLIVEIRA, 2010).

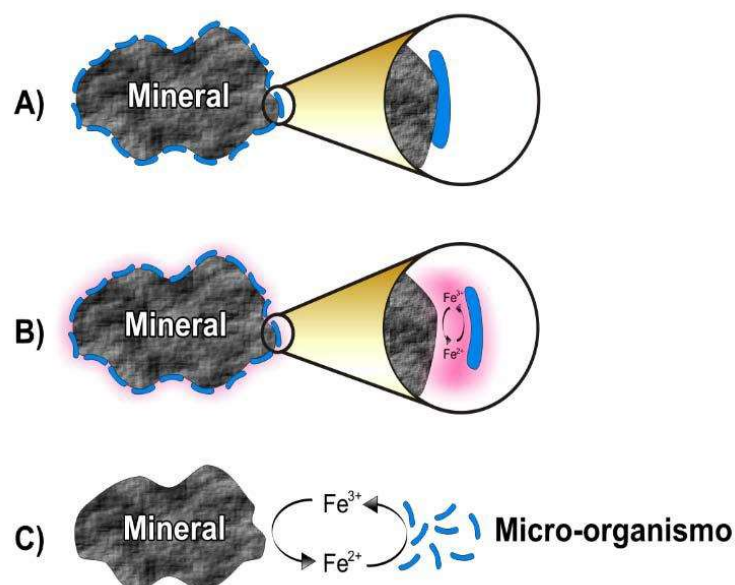
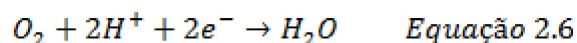
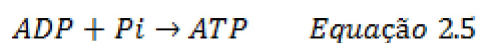
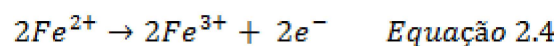


Figura 2.5: Mecanismos de biolixiviação de minerais. (a) Mecanismo de contato direto; (b) Mecanismo indireto de contato e (c) Mecanismo indireto de não-contato (OLIVEIRA, 2010)

Bactérias como *At. ferrooxidans* necessitam de íons H^+ para oxidar o $Fe(II)$, cuja reação (equação 2.4) libera os elétrons necessários para a obtenção de energia na forma de ATP (equação 2.5) e o oxigênio, por sua vez, atua como receptor final desses elétrons ao ser reduzido (equação 2.6). Além disso, a presença de H^+ no meio permite que haja gradiente de concentração entre o meio externo e o interior da célula, uma vez que, o pH do meio externo é bastante ácido ($\sim 2,0$) e o pH interno da célula bacteriana está próximo da neutralidade. Esse gradiente é responsável por garantir potencial elétrico suficiente para a formação da molécula de ATP, através de ATPases transmembrana. Tais fatos esclarecem o caráter acidófilo estrito desses micro-organismos (MADIGAN; MARTINKO e PARKER, 2010).



Uma forma de acompanhar o crescimento de *At. ferrooxidans* é através da variação das concentrações molares de $Fe(II)$ e $Fe(III)$ no meio de cultivo. Visto que esses micro-organismos são obrigatoriamente quimiolitotróficos e utilizam os íons $Fe(II)$ como fonte de energia, oxidando-os a $Fe(III)$. A relação entre as concentrações desses íons definem o

potencial eletroquímico do cultivo, representado por Eh (equação 2.7) (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

$$E_h = E_h^0 + \frac{RT}{F} \ln \frac{[Fe(III)]}{[Fe(II)]} \quad \text{Equação 2.7}$$

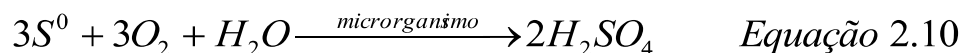
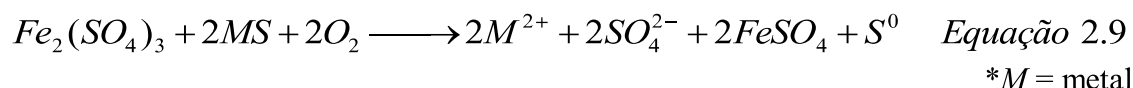
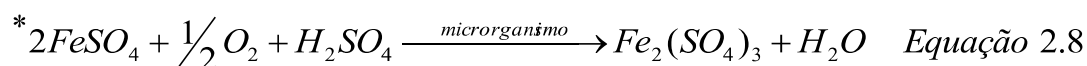
onde E_h^0 é o potencial de redução padrão da reação, R é a constante dos gases perfeitos, T é a temperatura em °C e F a constante de Faraday.

Analisando a equação 2.7, percebe-se que o aumento na concentração de Fe(III) culmina no aumento no valor do Eh. Este aumento, por sua vez, é resultante do metabolismo microbiano, logo a elevação nos valores do Eh é proporcional à atividade metabólica destas bactérias presentes no meio, podendo então ser utilizado como um parâmetro de análise de crescimento (RODRIGUES, 2012).

2.8 Remoção de metais de lodo de esgotos por biolixiviação

Theis e Hayes (1980) *apud* Villar (2003) mostraram que nas condições de pH e Eh normalmente encontradas em reatores anaeróbios, os metais cobre, níquel, chumbo e zinco estão presentes na forma de sulfetos e o cromo se apresenta como hidróxido. Estes mesmos autores afirmaram que apenas a acidificação do lodo não bastaria para solubilização dos metais, principalmente devido à estabilidade dos sulfetos metálicos frente à dissolução, e, desta forma, seria necessário o aumento dos valores de Eh do meio para criar condições de oxidação dos referidos sulfetos. Sendo este, justamente, o princípio dos processos de lixiviação bacteriana, nos quais a oxidação de Fe(II) e de espécies reduzidas de enxofre proporcionam a redução do pH e o aumento do Eh.

Assim, a solubilização de metais pode ocorrer pela oxidação de sulfetos metálicos por íons Fe(III) oriundos do metabolismo microbiano (equações 2.8 e 2.9) e ainda pela possibilidade de produção de íons H^+ no meio, a partir da oxidação de espécies reduzidas de enxofre (equação 2.10) (GAMA, C. D.; TORRES, V. N.; BARROSO, F. V., 2002). Dessa maneira, quando micro-organismos quimiolitotróficos utilizam a oxidação desses compostos minerais, presentes em lodo de esgotos, para a obtenção de energia, os metais podem ser solubilizados reduzindo o teor destes na fase sólida.



Sendo assim, para tornar o aproveitamento do lodo como fertilizante uma opção de disposição final do mesmo, a biolixiviação dos metais presentes nesse lodo se mostra uma alternativa relevante e pode ser realizada através de micro-organismos como a bactéria *At. ferrooxidans* que são oxidantes de ferro e de enxofre. Porém, Villar (2003) ressalta como inconveniente a necessidade de ajuste do pH a valores iguais ou inferiores a 4,0, uma vez que, sendo estas espécies acidofílicas, não são capazes de sobreviver em níveis de pH mais elevados. Além disso, para uma inoculação bem sucedida é necessário adaptação destes micro-organismos à condição de meio de cultivo contendo lodo de esgotos.

Quando o lodo é oriundo de atividades industriais e o efluente tratado já é rico em metais, existe a possibilidade do mesmo poder ser enriquecido em espécies quimiolitotróficas endógenas, com a suplementação do meio com compostos inorgânicos, como o Fe(II) na forma de sulfato ferroso. Este processo reduziria o tempo de adaptação microbiana, bem como evitaria a necessidade de manutenção de culturas para inóculo. Há, ainda, o relato de espécies de *Thiobacillus* neutrofílicas que podem estar presentes no lodo e serem capazes de reduzir o pH de 7,0 para 4,0 sem a utilização de ácidos inorgânicos (VILLAR, 2003).

3 OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo geral estudar o crescimento de cultura mista de micro-organismos mesófilos, acidófilos e quimiolitotróficos, predominantemente *Acidithiobacillus ferrooxidans*, em lodo de reator UASB de escala laboratorial, tratando efluente industrial. Para alcançar este objetivo geral, os seguintes objetivos específicos foram propostos:

- ✓ Obter o inóculo inicial de *At. ferrooxidans* em meio com ausência de matéria orgânica.
- ✓ Avaliar o crescimento de *At. ferrooxidans* em valores crescentes de pH e em concentrações crescentes de lodo.
- ✓ Enriquecer o lodo do reator UASB em micro-organismos oxidantes de ferro “endógenos”.
- ✓ Avaliar o decaimento do pH durante o processo de lixiviação de metais do lodo.
- ✓ Efetuar a caracterização química do lodo do reator UASB.
- ✓ Avaliar a lixiviação de metais do lodo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Micro-organismos, amostra de lodo e preparo do inóculo

Neste trabalho foi utilizada uma cultura mista de micro-organismos acidófilos, mesófilos e quimiolitotróficos, composta predominantemente por *Acidithiobacillus ferrooxidans*, e por esse motivo tratada nesse texto como cultura de *At. ferrooxidans*. Esta cultura foi cedida pelo Laboratório de Bio&Hidrometalurgia do Departamento de Engenharia Metalúrgica/UFOP e a mesma foi mantida resfriada a 4°C no Laboratório Biotecnológico da Universidade Federal de São João Del Rei, Campus Alto Paraopeba. A amostra de lodo foi obtida de um reator UASB de escala laboratorial no qual é estudado o tratamento de efluentes industriais, em sua maioria, ricos em sulfato e metais.

O meio de cultura empregado nos experimentos foi o meio Norris, suplementado com Fe(II), cuja composição está descrita na Tabela 4.1. As culturas foram mantidas em *shaker* termostatzado, a uma temperatura de 35°C e sob agitação de 150min⁻¹.

Tabela 4.1: Composição do meio de cultura Norris.

Reagente	Composição (g/L)
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,4
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,8
K ₂ HPO ₄	0,4
Fe(II)	5,0
Água destilada	q.s.p.

O inóculo inicial foi preparado a partir do restabelecimento das culturas resfriadas, utilizou-se 20mL de micro-organismos, meio de cultura Norris (Tabela 4.1) suplementado com solução 5,0g/L de Fe(II) na forma de sulfato ferroso, o volume final do cultivo foi de 100mL. O pH desta preparação foi mantido a 1,75±0,02, utilizando uma solução de ácido sulfúrico concentrado ou NaOH 5M quando necessário. Manteve-se o cultivo incubado a 35°C e 150 min⁻¹ até a obtenção de Eh aproximadamente 600mV. Este inóculo foi mantido através de sub-cultivos semanais.

4.2 Avaliação do crescimento da cultura de *At. ferrooxidans* em concentrações crescentes de lodo e em valores crescentes de pH

A cultura de *At. ferrooxidans* foi primeiramente adaptada ao pH 4,0, sem adição de nenhum tipo de matéria orgânica. Para isso, elevou-se o pH do meio de 0,5 em 0,5 utilizando uma solução de NaOH 5M e mantendo-se as mesmas condições de sub-cultivo utilizadas no preparo do inóculo (item 4.1). Realizou-se dois sub-cultivos entre as alterações do pH a fim de garantir a adaptação da cepa e estes repiques foram realizados após o Eh da cultura atingir, no mínimo, 550mV. Em seguida, adaptou-se a cultura em pH 4,0 a níveis elevados de matéria orgânica (lodo do reator UASB), aumentando a concentração de matéria orgânica do meio de forma gradativa, iniciando em 1%, aumentando para 5% e por fim para 10%.

O crescimento microbiano foi avaliado de acordo com o aumento no potencial de oxidação do meio (Eh), utilizando Ehmetro da marca HANNA. Avaliou-se também o decaimento do pH, resultante do metabolismo microbiano e do processo de biolixiviação dos metais do lodo, utilizando pHmetro da marca Digimed.

Todos os experimentos foram realizados em triplicata e para cada condição experimental foram realizados controles negativos, sob as mesmas condições, de forma a garantir que o decaimento do pH e a elevação do Eh eram resultantes da ação microbiana, com exceção do pH 2,0. Para garantir que os ensaios controle não fossem contaminados adicionou-se a cada ensaio 2 mL de antimicrobiano (solução de metilparabeno e propilparabeno).

4.3 Enriquecimento do lodo do reator UASB em micro-organismos oxidantes de ferro “endógenos”

Foi utilizado o termo “endógeno” para nomear micro-organismos oxidantes de ferro enriquecidos a partir da amostra de lodo de UASB utilizada nos experimentos. O enriquecimento foi feito, inoculando 50mL do lodo em meio de cultura Norris (Tabela 4.1), suplementado com 5,0g/L de Fe(II) na forma de sulfato ferroso, o volume final de cultivo foi igual a 100mL.

Corrigiu-se o pH para $1,75 \pm 0,02$ utilizando uma solução de ácido sulfúrico concentrado e manteve-se o cultivo incubado a 35°C e 150min^{-1} até a obtenção de um Eh de aproximadamente 600mV. Depois de atingido o Eh desejado, realizou-se sub-cultivos reduzindo gradativamente o volume de lodo adicionado e sendo mantidas as demais condições. Inicialmente foi utilizada a concentração de 50% (v/v) de lodo. Quando a amostra do experimento inicial atingiu o Eh esperado, ela foi utilizada como inóculo para um novo sub-cultivo na concentração de 25% (v/v). E por fim, ao atingir o Eh esperado, o sub-cultivo foi utilizado como inóculo para um novo sub-cultivo na concentração de 10% (v/v). Para todas as condições experimentais, também foram mantidos controles abióticos.

4.4 Caracterização química do lodo e das amostras biolixiviadas

A determinação dos teores de metais presentes nas amostras de lodo antes e depois do processo de biolixiviação foi feita após filtração e digestão ácida das amostras a 400°C . Utilizou-se cerca de 10mL de água régia (ácido nítrico e ácido clorídrico 1:1) para cada 0,5g de lodo. Após a digestão, as amostras foram filtradas e a solução resultante transferida para balão volumétrico de 50mL.

Os metais dissolvidos presentes tanto nas amostras de lodo inicial, quanto no lodo após biolixiviação, foram analisados via Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES), modelo 725/ES Varian®, no Laboratório de Bio&Hidrometalurgia do Departamento de Engenharia Metalúrgica/UFOP.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Obtenção de inóculo bacteriano a partir de cultura mista de micro-organismos acidófilos, predominantemente *Acidithiobacillus ferrooxidans*

Realizou-se o cultivo de uma cultura mista de micro-organismos quimiolitotróficos, acidófilos e mesófilos, composta predominantemente por *At. ferrooxidans*, para a obtenção do inóculo a ser utilizado nos experimentos seguintes. Neste cultivo inicial, não foi adicionada qualquer matéria orgânica, apenas meio de cultura Norris, suplementado com Fe(II), como descrito na Tabela 4.1. Observou-se que à medida que o Eh do meio aumenta, indicando crescimento microbiano, a coloração do meio é alterada. A mudança de cor do meio é decorrente da oxidação do Fe(II) a Fe(III) que passa a apresentar uma coloração castanha ocasionada pela presença de íons Fe(III) (Figura 5.1) (TAKAMATSU, 1995).



Figura 5.1: Coloração do meio de cultivo antes (frasco da esquerda) e depois do crescimento de *At. ferrooxidans* (frasco da direita), atingindo Eh maior que 600mV. As condições de cultivo foram 35°C, pH 1,75 e agitação 150min⁻¹.

Relata-se que valores de potencial de oxidação do meio acima de 500mV, em processos de biolixiviação, indicam atividade microbiana aceitável (RODRIGUES *et al.*, 2013). Durante a obtenção do inóculo, observou-se que após seis dias de cultivo os valores de Eh já ultrapassavam 600mV (Figura 5.2) indicando que o inóculo estava pronto para dar continuidade aos experimentos. O inóculo foi mantido, durante todo o período de realização deste trabalho e o Eh manteve-se entre 600 e 700mV (Figura 5.2).



Figura 5.2: Variação do Eh do cultivo do inóculo de *At. ferrooxidans* em função do tempo.

5.2 Avaliação do crescimento da cultura de *At. ferrooxidans* em valores crescentes de concentração de lodo e de pH

A cultura utilizada neste trabalho tem crescimento ótimo na ausência de matéria orgânica e em pH 1,75, como observado no item 5.1. Com o objetivo de efetuar a biolixiviação de metais a partir de lodo de esgoto, foi necessário adaptar a mesma às condições físico-químicas do lodo. Para isso foram efetuados repiques em condições crescentes de pH e, posteriormente, em concentrações crescentes de lodo.

Durante o processo de biolixiviação dos metais presentes espera-se a redução nos valores do pH inicial conforme relatado por GAMA, TORRES e BARROSO, 2002, devido, principalmente, à geração de ácido durante a oxidação dos sulfetos metálicos. A adaptação da cepa aos valores de pH mais elevados foi feita apenas até o pH 4,0 e não até o pH do lodo, aproximadamente 6,0, pois sendo esses micro-organismos acidofílicos obrigatórios, não se desenvolveriam em valores de pH maiores (VILLAR, 2003).

Na Tabela 5.1 é possível observar os valores médios de pH final e Eh iniciais e finais para cada sub-cultivo durante a adaptação da cepa a condições crescentes de pH. Neste caso, ainda não foi adicionada qualquer concentração de matéria orgânica (lodo) ao cultivo microbiano. O controle abiótico nestes experimentos é importante para garantir que as alterações observadas são decorrentes do metabolismo microbiano e não decorrentes de transformações químicas espontâneas.

Tabela 5.1: Valores de pH final e Eh iniciais e finais para os cultivos em pH crescente, durante a adaptação da cepa de *At. ferrooxidans*.

pH inicial	Intervalo de tempo (dias)	pH final	Eh inicial (mV)	Eh final (mV)
2,0	2	1,76	419	666
2,5	2	1,82	382	640
Controle		2,23	364	397
3,0	2	1,68	372	676
Controle		2,57	272	330
3,5	3	2,40	213	636
Controle		2,88	178	240
4,0	2	2,12	285	657
Controle		2,81	236	246

(*) Intervalo de tempo = tempo gasto pelo cultivo para atingir valores de Eh maiores que 600 mV.

Analisando os dados da Tabela 5.1 percebe-se o decaimento do pH ajustado inicialmente e um aumento do Eh inicial, atingindo valores acima de 600 mV, quando comparado aos controles abióticos, indicando atividade biológica no meio. O decaimento do pH é ocasionado pelo metabolismo de *At. ferrooxidans*, que possui a capacidade de reduzir o pH, durante a oxidação dos compostos minerais, pela liberação de H_2SO_4 , como mostrado pelas equações 2.8 e 2.10.

É possível observar que os controles referentes ao pH inicial 3,5 e 4,0 apresentaram decaimento do pH, enquanto o Eh do meio não aumentou. Isso pode ter ocorrido, pois com o aumento do pH e em presença de oxigênio, o Fe(II) perde estabilidade e pode ser oxidado quimicamente a Fe(III), este Fe(III) pode ter sido consumido oxidando espécies reduzidas de enxofre e provocando ligeira queda no pH (MADIGAN; MARTINKO e PARKER, 2010). No entanto, como o Eh não atingiu valores acima de 500mV, pode-se

descartar que nestes controles houve atividade microbiana (RODRIGUES *et al.*, 2013) e, consequente, a solubilização de metais pode não ter sido eficiente.

A solubilidade dos metais está relacionada à concentração de íons H^+ no meio e às condições oxidantes, uma vez que espécies importantes como cobre e zinco se encontram na forma sulfetada, nas condições do lodo anaeróbio (VILLAR, 2003). Dessa forma, os valores de pH mais baixos, ocasionados pela oxidação dos compostos minerais, favorecem a solubilização de muitos metais. No caso do lodo de esgoto, os metais tendem a ter sua mobilidade da fase sólida para a fase líquida aumentada, ocorrendo a biolixiviação dos mesmos (ASSUNÇÃO e SÍGOLO, 1997 e VILLAR, 2003). Com a acidificação do lodo, é importante a adequação do seu pH antes de adicioná-lo ao solo para alinhamento às exigências feitas por CONAMA, 2006. No entanto, ainda são necessárias novas pesquisas quanto aos processos de separação dos metais solubilizados para que os mesmos não precipitem novamente e comprometa o resultado do processo de biolixiviação.

Após a aclimação dos micro-organismos em pH 4,0, esta cultura foi adaptada à presença de percentuais crescentes de lodo (1%, 5% e 10%). Os dados médios do pH final e Eh iniciais e finais para cada cultivo durante a adaptação da cepa a concentrações crescentes de matéria orgânica (lodo) são apresentados na Tabela 5.2. Todos os experimentos foram realizados em triplicata e foram feitos controles abióticos para cada condição.

Tabela 5.2: Valores de pH iniciais e finais e Eh iniciais e finais médios para os cultivos em cada concentração de matéria orgânica durante a adaptação da cepa de *At. ferrooxidans*.

Concentração de matéria orgânica	Intervalo de tempo (dias)	pH inicial	pH final	Eh inicial (mV)	Eh final (mV)
1%	5	4,00	2,44	16,7	624
Controle		4,00	3,27	14,8	312
5%	2	4,00	2,54	41,4	595
Controle		4,00	3,18	-11,4	220
10%	2	4,00	2,53	-10,7	600
Controle		4,00	4,05	-21,9	216

Os dados apresentados na Tabela 5.3, expressam o decaimento do pH inicial decorrente da liberação de íons H^+ na oxidação dos compostos metálicos. Os valores iniciais de Eh aumentaram indicando a oxidação dos íons Fe(II) a Fe(III). Em contrapartida, nos controles abióticos não houve redução significativa nos valores de pH e o Eh não ultrapassou 312mV, podendo-se comprovar a atividade biológica nos experimentos de adaptação. A carga de matéria orgânica presente no lodo oriundo dos processos de tratamento biológico de efluentes é elevada e então a adaptação dos micro-organismos a esta condição é fundamental para que os mesmos consigam se desenvolver e atingir o objetivo principal deste estudo que é a biolixiviação dos metais (VILLAR, 2003).

5.3 Enriquecimento do lodo do reator UASB em micro-organismos oxidantes de ferro “endógenos”

Tendo em vista os resultados dos experimentos realizados com culturas de *Acidithiobacillus* crescidas em pH 4,0, vislumbrou-se a possibilidade de enriquecer a amostra de lodo e, dessa forma, favorecer o crescimento de micro-organismos envolvidos no processos de solubilização de metais, sem a necessidade de manutenção de culturas puras e de processos de adaptação. Assim, realizou-se o enriquecimento do lodo, com o objetivo de obter micro-organismos oxidantes de ferro e enxofre “endógenos” conseguindo-se, dessa forma, um inóculo rico em micro-organismos já adaptados às condições de pH e matéria orgânica características do lodo de esgoto.

Na Figura 5.3-a pode-se observar que o meio apresenta inicialmente a mesma coloração do lodo e, além disso, um forte odor característico desse tipo de efluente, que neste caso é rico em enxofre, por se tratar de reator UASB tratando efluente industrial rico em sulfato. À medida que os micro-organismos se desenvolvem no meio (observado pela elevação nos valores de Eh, como visto na Figura 5.4) pode-se notar alteração nas características do meio, como redução do odor e alteração da coloração (Figura 5.3 - b e c).

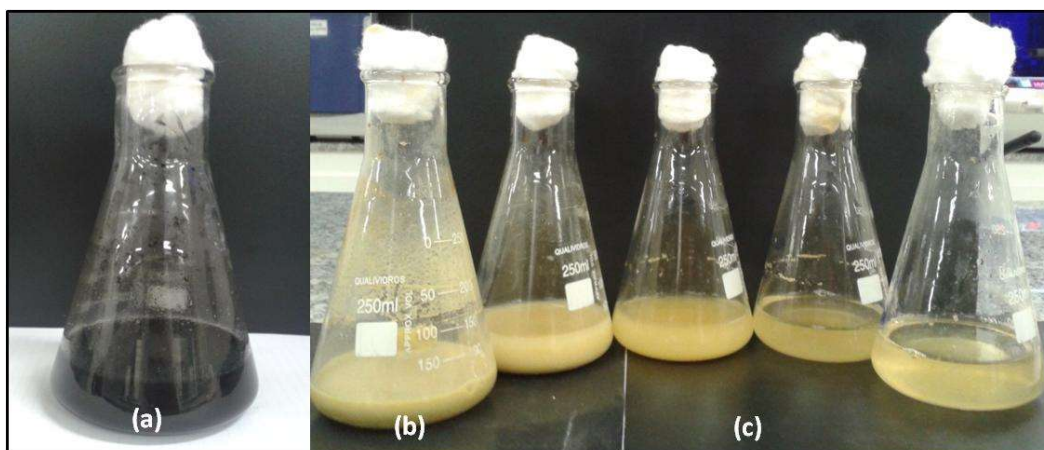


Figura 5.3: (a) Condição inicial do cultivo de enriquecimento do lodo. (b) Condição final do cultivo de enriquecimento de micro-organismos oxidantes de ferro e enxofre “endógenos”. (c) Condição final dos repiques da cultura de enriquecimento. As condições de cultivo foram 35°C, pH 1,75 e agitação 150min⁻¹.

Após a obtenção da cultura enriquecida foram realizados repiques para manutenção da cepa endógena nos quais o volume de lodo adicionado foi reduzido gradativamente e as demais condições mantidas. Em todas as culturas de enriquecimento o pH foi mantido próximo a 1,75, condição ótima para o crescimento de micro-organismos oxidantes de ferro e enxofre acidofílicos. Na Figura 5.4 são dispostos os dados de Eh coletados durante esse mesmo período 18 dias de incubação do cultivo de enriquecimento.



Figura 5.4: Variação do Eh do cultivo de enriquecimento de *At. ferrooxidans* endógena em função do tempo.

Analisando os valores do potencial de oxidação na Figura 5.4 percebe-se que ele aumentou exponencialmente nos primeiros oito dias e depois se manteve em valores próximos a 600mV. Com o alcance do valor de potencial de oxidação neste valor, pode-se afirmar que micro-organismos oxidantes de ferro e enxofre “endógenos” do lodo cresceram no meio, o que vai de encontro com os dados obtidos por VILLAR, 2003.

Os potenciais de oxidação iniciais e finais dos repiques de manutenção da cultura “endógena” podem ser observados na Tabela 5.3 e confirmam que a obtenção destes cultivos foi satisfatória, uma vez que o alcance do potencial de oxidação de 600 mV foi regular.

Tabela 5.3: Valores de Eh iniciais e finais dos repiques para manutenção da cultura enriquecida de micro-organismos oxidantes de ferro e enxofre “endógenos”.

Sub-cultivo	Intervalo de tempo (dias)	Eh inicial (mV)	Eh final (mV)
1	2	430	638
2	2	373	650
3	2	378	645
4	2	384	587

A fim de garantir que os dados apresentados na Tabela 5.3 realmente eram indicativos do enriquecimento endógeno do lodo realizou-se um experimento de controle, seguindo as mesmas condições do experimento do cultivo de enriquecimento, porém adicionando uma solução conservante para impedir o desenvolvimento microbiano. Na Figura 5.5, obtida após 6 dias de incubação do cultivo de controle não houveram alterações visuais significantes no meio, mas somente a precipitação de sólidos. Além disso, é possível perceber na Figura 5.6 que o potencial de oxidação do cultivo controle não ultrapassou 300mV, bem abaixo dos valores esperados para indicar crescimento microbiano.

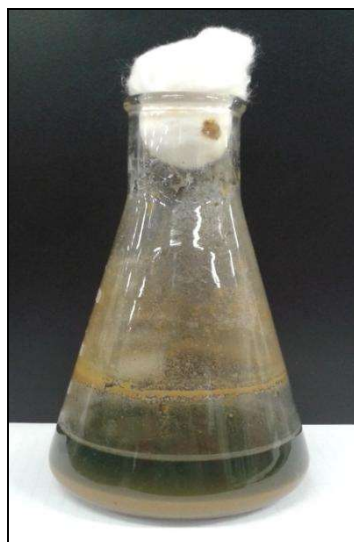


Figura 5.5: Condição do cultivo de controle do enriquecimento de *At. ferrooxidans* endógena do lodo após 6 dias de incubação. As condições de cultivo foram 35°C, pH 1,75 e agitação 150min⁻¹.

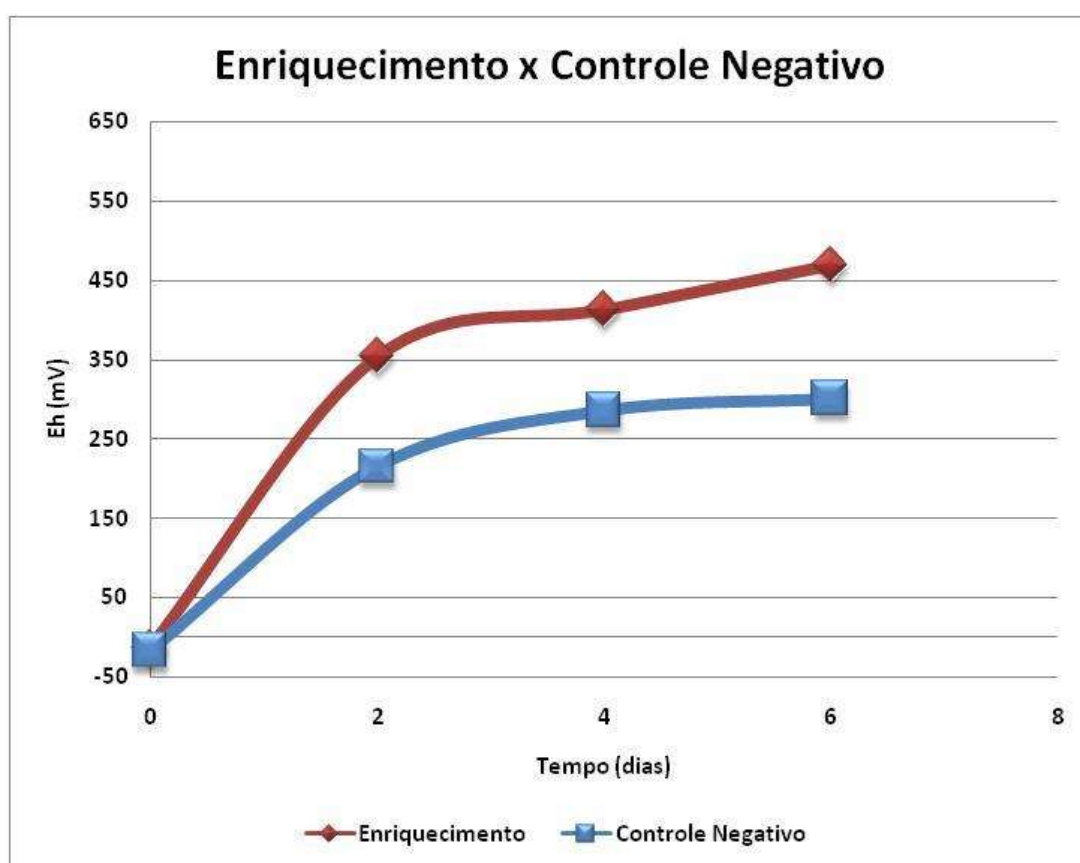


Figura 5.6: Comparação da variação do Eh do cultivo de enriquecimento de *At. ferrooxidans* endógena e do cultivo de controle em função do tempo.

A variação do potencial de oxidação no cultivo de controle é resultante da oxidação dos íons de Fe(II) pelo O₂. Esse fenômeno ocorre naturalmente, porém em taxas bem reduzidas, quando comparado à oxidação realizada por micro-organismos oxidantes de ferro, como é o caso da *At. ferrooxidans* (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

5.4 Caracterização química do lodo e das amostras biolixiviadas

A concentração total dos metais cromo, cobre, níquel e zinco, obtidas para a amostra de lodo utilizada neste trabalho está representada na Tabela 5.4. Não foram detectadas concentrações de arsênio e cádmio nestas amostras e, por questões técnicas, chumbo e mercúrio não foram avaliados. A amostra de lodo foi filtrada, pesada e solubilizada em água régia para posterior análise química, estas análises foram feitas em triplicata.

Tabela 5.4: Valores de concentrações iniciais e finais de cromo, cobre, níquel e zinco presentes no lodo submetido a biolixiviação e seus controles abióticos, ensaios realizados 5% e 10% (p/v) de lodo.

Metais (mg.kg ⁻¹ de lodo filtrado)	Lodo anterior à Biolixiviação	Ensaio 5% de lodo	Ensaio controle 5% de lodo	Ensaio 10% de lodo	Ensaio controle 10% de lodo
Cr	19,22	6,07	14,35	35,60*	16,68
Cu	22,72	♦	46,13*	4,74	19,20
Ni	83,93	♦	7,91	7,67	15,03
Zn	867,22	18,71	130,59	90,32	238,46

(♦) Valores abaixo do limite de detecção. LD < 5 µg/L.

*Provável erro experimental, necessário repetir a análise.

Segundo TSUTIYA, 1999 esse metais são prejudiciais às plantas quando em concentrações excessivas e a remoção dos mesmos é necessária para a disposição do lodo no solo. A presença de tais metais no lodo inviabiliza a utilização do mesmo como fertilizante, uma vez que, eles são considerados prejudiciais ao desenvolvimento de plantas, aos processos que ocorrem no solo, além do risco de contaminação dos lençóis freáticos e do acúmulo nos níveis tróficos (CAMMAROTA, 2013).

Buscando avaliar a solubilização dos metais presentes no lodo pelos micro-organismos biolixivantes, presentes no inóculo com predominância de *At. ferrooxidans*, os teores de

metais depois do processo de biolixiviação foram determinados por ICP-OES. As amostras foram filtradas e os sólidos retidos foram submetidos à digestão ácida. Estes resultados também se encontram na Tabela 5.4.

Analisando os dados da Tabela 5.4 pode-se observar a redução da concentração dos metais na fração sólida, chegando a níveis de 100% de remoção, como no caso do cobre e do níquel para os ensaios realizados com 5% (p/v) de lodo. O cromo chegou a cerca de 70% de solubilização no ensaio com 5% de lodo, em comparação a 25% no ensaio controle e perfil semelhante é observado para o zinco. Para os ensaios utilizando 10% de lodo, os resultados dos ensaios inoculados também mostrou desempenho superior aos ensaios abióticos, por exemplo, o cobre alcançando 80% de solubilização nos ensaios bióticos e apenas 15% no ensaio controle. Valores de concentração acima daqueles encontrados na condição inicial da amostra, caso do cobre no ensaio controle com 5% de lodo e do cromo no ensaio com 10% de lodo, denotam erro experimental e necessitam ser repetidos.

Esses valores apontam para a ocorrência de solubilização mais eficiente dos metais nos ensaios inoculados com micro-organismos oxidantes de ferro e enxofre, em comparação com os ensaios controle. Como o tempo de incubação foi o mesmo para as amostras e para os controles, pode-se dizer que os micro-organismos atuaram como catalisadores do processos de lixiviação dos metais (SOBRINHO, VELLOSO e OLIVEIRA, 1997), esses resultados são semelhantes aos demonstrados por Villar (2003) que obteve 100% de remoção de zinco e níquel, 80% de remoção de cobre e 60% de remoção de cromo em ensaios realizados em pH 4,0 e utilizando lodo anaeróbio suplementado com *At. thiooxidans*.

As concentrações de cromo, cobre, níquel e zinco encontradas no lodo não extrapolam os limites máximos estabelecidos em CONAMA, 2006, conforme apresentado na Tabela 5.5. No entanto, de acordo com a análise de solubilização apresentada na Tabela 5.4, pode-se dizer que o processo de biolixiviação pela bactéria *At. ferrooxidans* pode ser considerada uma alternativa promissora para a remoção de metais de lodo anaeróbio.

Tabela 5.5: Análise comparativa entre as concentrações iniciais e finais de alguns metais presentes na fração sólida do lodo e os limites máximos estabelecidos em CONAMA, 2006.

Metais	Limite máximo (mg/kg)	Concentração no sólido (mg/kg)		
		Inicial	Final (5% de lodo)	Final (10% de lodo)
Cr	1000	19,22	6,07	35,60
Cu	1500	22,72	♦	4,74
Ni	420	83,93	♦	7,67
Zn	2800	867,22	18,71	90,32

(♦) Valores abaixo do limite de detecção. LD < 5 µg/L.

Estes resultados foram preliminares e novos estudos precisam ser conduzidos para definir as melhores condições de lixiviação, inclusive utilizando maior quantidade de lodo e, possivelmente, sem a necessidade de inoculação após enriquecimento do mesmo. No entanto, são resultados foram animadores encorajando o desenvolvimento da biotecnologia de remoção de metais de lodo de esgoto com potencial aplicação como biofertilizante.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstram bom desenvolvimento da *At. ferrooxidans* em lodo anaeróbio, quando adaptada progressivamente. Comprovou-se a tendência de decaimento do pH a valores próximos de 2,0 e de acréscimo do Eh atingindo 600mV, com o desenvolvimento desses micro-organismos capazes utilizar compostos inorgânicos como ferro e enxofre, como fonte de energia. O processo de adaptação é fundamental para que os micro-organismos consigam se desenvolver no lodo e realizar o processo de biolixiviação dos metais.

Outro resultado satisfatório foi o enriquecimento do lodo com micro-organismos oxidantes de ferro e enxofre endógenos, alcançando valores Eh próximos a 600mV, em comparação com os ensaios abióticos, nos quais não foi observada atividade microbiana. Esse resultado representa a oportunidade de utilizar esses micro-organismos, já adaptados às condições do lodo, no processo de biolixiviação.

Com a solubilização de 100% do cobre e níquel, 98% de zinco e 70% de cromo presentes nas amostras das frações sólidas analisadas, a biolixiviação desses metais pela ação da *At. ferrooxidans* ocorreu com sucesso. Com o controle das concentrações desses metais no lodo torna-se possível realizar a disposição final do mesmo no solo, para aplicação como fertilizante.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Estudos complementares visando dar continuidade aos resultados obtidos neste trabalho poderiam contemplar:

- ✓ Ensaios de biolixiviação em percentuais elevados de lodo.
- ✓ Avaliação da cinética de dissolução de metais.
- ✓ Enriquecimento do lodo em pH neutro na busca de micro-organismos do tipo *Thiobacillus* neutrofilicos, capazes de reduzir o pH do meio de 7,0 para 4,0 sem adição de ácidos inorgânicos.
- ✓ Caracterização do lodo após biolixiviação quanto à presença de organismos patogênicos e quanto às concentrações de nitrogênio, fósforo e potássio a fim de avaliar a existência de níveis tóxicos ou a necessidade de suplementação destes nutrientes no biossólido que será usado como fertilizante agrícola.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 9800/NB 1032: Critérios para lançamento de efluentes líquidos industriais no sistema coletor público de esgoto sanitário.** São Paulo, 1987.

ANDRADE, J. B. [Notas de Aula]. **Saneamento básico - Sistema de esgotamento sanitário.** Departamento de Engenharia Civil - Universidade Católica de Goiás. Goiânia, 2006.

ANDREOLI, C. V.; TAMANIN, C. R.; HOLSBACH, B.; PEGORINI, E. S.; NEVES, P. S. **Uso de lodo de esgoto na produção de substrato vegetal.** In: ANDREOLI, C. V. *Biossólidos - Alternativas de uso de resíduos do saneamento.* Rio de Janeiro: Ed. ABES (Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental), 2006. 398 p.

ASSUNÇÃO, J. C. B.; SÍGOLO, J. B. **Influência do ambiente tropical em lodos gerados na Estação de Tratamento de Esgotos de Barueri-SP: Comportamento dos metais pesados.** Revista Brasileira de Geociências, v. 27, 1997.

BARBOSA, G. M. C.; FILHO, J. T. **Uso agrícola do lodo de esgoto: influência nas propriedades químicas e físicas do solo, produtividade e recuperação de áreas degradadas.** Universidade Estadual de Londrina. Semina: Ciências Agrárias, v. 27, n. 4, p. 565-580, 2006.

BRASIL. **Lei nº 11.445.** de 5 de Janeiro de 2007. Estabelece diretrizes nacionais para o saneamento básico.

CAMMAROTA, M. C. [Notas de Aula]. **Biotecnologia Ambiental.** Escola de Química. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Julho/Dezembro de 2013.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências.** Resolução Nº 375, de 29 de agosto de 2006.

DONOVAN P. K.; ANN P. W. **Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov.** International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. v. 50, p. 511-516, 2000.

GAMA, C. D.; TORRES, V. N.; BARROSO, F. V. **Impacte ambiental das águas subterrâneas pela drenagem ácida de rochas na exploração de minas.** XII Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas. São Paulo, 2002.

GIORDANO, G. **Tratamento e Controle de Efluentes Industriais.** Departamento de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente - Universidade Estadual do Rio de Janeiro – UERJ, 2009. 81f. Notas de Aula. Disponível em: <file:///C:/Users/Admin/Downloads/GIORDANO.pdf>. Acessado em: 27 de novembro de 2014.

GODOY, L. C. **A logística na destinação do lodo de esgoto.** *Revista Científica On-line Tecnologia Gestão Humanismo*, v.2, n.1, 2013.

ICLEI - BRASIL. **Manual para aproveitamento de biogás.** Vol. 2 - Efluentes urbanos. ISBN: 978-85-99093-03-0. São Paulo, 2010.

LARA, A. I.; FERREIRA, A. C.; ANDREOLI, C. V.; PEGORINI, E. S.; ILHENFELD, R. G. K. **Uso e manejo do lodo de esgoto na agricultura.** SANEPAR - Companhia de Saneamento do Paraná. PROSAB - Programa de Pesquisa em Saneamento Básico. Curitiba, 1999.

MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M. & PARKER, J. (Eds.). **Microbiologia de Brock.** 10ª Edição. São Paulo: Person, 2010.

MENEZEZ, O. D., SILVINO, G., NETO, A. C. **Orientações Básicas para Operação de Estações de Tratamento de Esgoto - ETEs.** Belo Horizonte: FEAM, 2006.

MOURA, A. N. **Remediação de áreas contaminadas com metais pesados utilizando *Acidithiobacillus sp.*** Tese de doutorado. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2006.

NETO, S. P. M.; JÚNIOR, C. H. A.; MURAOKA, T. **Documentos 202 - Uso de biossólido em plantios florestais.** EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Planaltina, Distrito Federal, dezembro de 2007.

OLIVEIRA, D. M; SÉRVULO, E. F. C.; SOBRAL, L. G. S.; PEIXOTO, G. H. C. **Biolixiviação: Utilização de micro-organismos na extração de metais.** Série de Tecnologia Ambiental. CETEM: Rio de Janeiro, 2010.

OLIVEIRA, L. A. P. **Pesquisa Nacional de Saneamento Básico 2008.** IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Rio de Janeiro. 2010.

RODRIGUES, I. C. B. **Métodos Moleculares Aplicados a Biotecnologias Relacionadas ao Ciclo do Enxofre.** 2012. 125 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, MG.

RODRIGUES, M. L. M.; GAYDARDZHIEV, S.; LOPES, K. C. S.; LEÃO, V. A. **Biolixiviação de cobre contido em placas de circuito impresso (PCI) com micro-organismos mesófilos.** XXV Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa & VIII Meeting of the Southern Hemisphere on Mineral Technology, Goiânia/GO, 2013.

RUBIM, C. **Os desafios do tratamento de lodo.** Revista TAE, n. 14, p. 10-15, 2013.

SABESP - Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo. **Tratamento de Esgoto.** Disponível em:
<<http://www.sabesp.com.br/CalandraWeb/CalandraRedirect/?temp=2&proj=sabesp&pub=T&nome=TratamentoDeEsgoto&db=>>>. Acesso em: 15 de Novembro de 2014.