

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS - EESC
DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO - SHS
ENGENHARIA AMBIENTAL

MARCO FÚLVIO TOLEDO MARTINS

**Efeito do Aumento de Concentração de Cádmio (Cd^{2+})
no Processo Anaeróbico de Remoção de Matéria
Orgânica e de Sulfato**

São Carlos, SP

2012

Marco Fúlvio Toledo Martins

**Efeito do Aumento de Concentração de Cádmio (Cd^{2+}) no
Processo Anaeróbio de Remoção de Matéria Orgânica e de
Sulfato**

Trabalho apresentado à Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Engenharia Ambiental.

Área de concentração: Engenharia
Hidráulica e Saneamento.

Orientador: Dr. Gustavo Mockaitis

Co-orientador: Prof. Associado Marcelo Zaiat

São Carlos, SP

2012

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO,
POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS
DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

M379e Martins, Marco Fúlvio Toledo
 Efeito do aumento de concentração de Cádmio (Cd²⁺)
 no processo anaeróbico de remoção de matéria orgânica e
 de sulfato / Marco Fúlvio Toledo Martins; orientador
 Gustavo Mockaitis; coorientador Marcelo Zaiat. São
 Carlos, 2012.

 Monografia (Graduação em Engenharia Ambiental) --
 Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de
 São Paulo, 2012.

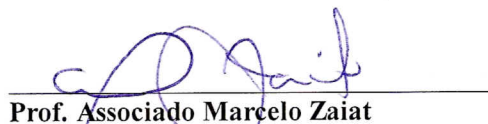
 1. processos anaeróbicos. 2. metanogênese. 3.
 sulfetogênese. 4. cádmio. 5. toxicidade. 6. reator de
 batelada simples. 7. bioprecipitação. I. Título.

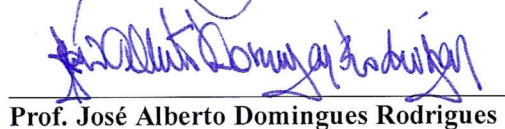
FOLHA DE APROVAÇÃO

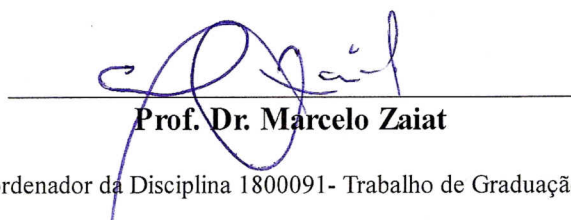
Candidato(a): **Marco Fulvio Toledo Martins**

Monografia defendida e aprovada em: **23/11/2012** pela Comissão Julgadora:


Dr. Gustavo Mockaitis


Prof. Associado Marcelo Zaiat


Prof. José Alberto Domingues Rodrigues


Prof. Dr. Marcelo Zaiat
Coordenador da Disciplina 1800091- Trabalho de Graduação

DEDICO ESTE TRABALHO A TODOS QUE AMO E TIVERAM PARTICIPAÇÃO

IMPRESINDÍVEL E MARCANTE NESTA VIDA.



Adaptado pela Fê das tirinhas de Calvin e Haroldo (Calvin & Hobbes)

In der Verletzbarkeit liegt das Leben. In der
Unverletzbarkeit oder Sicherheit der Tod!
Das Leben zusammensetzt sich völlig von
Abenteuer und Erfahrungen.

A inteligência das pessoas pode ser medida
pela quantidade de incertezas que elas
conseguem suportar.

Saiba!

Todo mundo foi neném, Einstein, Freud e Platão também,
Hitler, Bush e Saddam Hussein, quem tem grana e quem não tem.

Saiba!

Todo mundo teve infância, Maomé já foi criança,
Arquimedes, Buda, Galileu e também você e eu.

Saiba!

Todo mundo teve medo, mesmo que seja segredo,
Nietzsche e Simone de Beauvoir, Fernandinho Beira-Mar.

Saiba!

Todo mundo vai morrer, presidente, general ou rei,
Anglo-saxão ou muçulmano, todo e qualquer ser humano.

Saiba!

Todo mundo teve pai, quem já foi e quem ainda vai,
Lao-Tsé, Moisés, Ramsés, Pelé Gandhi, Mike Tyson, Salomé.

Saiba!

Todo mundo teve mãe Índios, africanos e alemães,
Nero, Che Guevara, Pinochet, e também eu e você,
e também eu e você,
eu e você...

Composição de Arnaldo Antunes

Was sind wir?

Wir sind die Summe all dessen was vor uns geschah,
all dessen was unter unseren Augen getan wurde,
all dessen was uns angetan wurde.

Wir sind jeder Mensch und jedes Ding,
dessen Dasein das unsere beeinflusste,
oder von unserem beeinflusste wurde.

Wir sind alles was geschieht nachdem wir nicht mehr sind,
und was nicht geschähe, wenn wir nicht gekommen wären.

Retirado do filme "Almanya: Willkommen in Deutschland"

AGRADECIMENTOS

“Não tenha pressa, e não perca tempo.”

José Saramago

Primeiramente, gostaria de dedicar esse trabalho a meu querido pai, Sérgio, e minha querida mãe, Lúcia Helena, pelo amor incondicional.

A minha irmã, Marissa, por todo o suporte e por ter me dado ótimas ideias, mesmo que loucas.

Aos meus irmãos de vivência, Cyr, Fer, Brito, e Lavin por terem me instigado a sonhar, por todos os bons momentos juntos, e por terem chutado a minha vagabunda bunda pra acordar.

Aos meus amáveis sobrinhos, Nina, Zé, e João por tantas risadas e trapalhadas.

Aos meus amigoezinhos personísticos do meu coração do período de universidade, possivelmente o melhor momento de nossas vidas: Amora, Bahia, Barbie, Bianca, Dê, Du, Eraldo, Fê, Guto, Ju, Juju, Má, Mirim, Pak, Rapha, Risa e Tia, por todos os momentos de insanidade e boas risadas, e, também, por terem me feito pensar de forma diferente. Principalmente a Fê por ter me acompanhado no árduo processo de escrita desse trabalho, ao Rapha que mudou consideravelmente os meus pré-conceitos e pelos momentos musicais, e a Barbie por ter dado ouvidos às minhas eloquentes teorias e pensamentos.

Aos amados rondonistas, que fizeram parte desse momento especial, o qual me fez perceber a felicidade da simplicidade ou a simplicidade da felicidade: principalmente à Tanare, Douglas, Barbbs, Bahia, Juju, Andressa, Débbie, Laine Mancha, Camila, e ao segundo sargento Márcio.

Um meinen guten Freunden Leontine, Sarah, Wiebke, Paul, Jorge, Martins, Cauê, Lisa und Niels, die mich so viele gelehrt haben und durch gute Gedanken beeinflusst haben.

Aos mestres e professores que marcaram a minha vida, ao Lehrer Herr Werner, ao Professor Marcelo, à Professora Patrícia e ao Professor Fernando, à treinadora Renata e ao Sensei Bin.

Ao meu bom amigo e orientador Gustavo, por todo o apoio e boas conversas.

Aos membros da banca pela participação e contribuição para este trabalho.

A todos que até hoje fizeram parte dessa vida e, mesmo que de uma forma louca e sem sentido, me fizeram ver o mundo de outra forma e refletir diferentemente.

Ao senhor dos bons ventos!

RESUMO

MARTINS, M.F.T. Efeito do aumento de concentração de Cádmio (Cd^{2+}) no processo anaeróbio de remoção de matéria orgânica e de sulfato. 81 p. Trabalho de Graduação, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

O presente trabalho objetivou o estudo da influência da contaminação aduga pelo íon cádmio em diferentes concentrações (5, 10, 25, 100 mg $\text{Cd}^{2+} \cdot \text{L}^{-1}$) na atividade metanogênica (ETAPA A) e na atividade sulfetogênica (ETAPA B). Os ensaios foram conduzidos em bateladas únicas por 60 horas a 30°C. Inoculo de reator UASB com características metanogênicas foi utilizado. Não foi realizada a adaptação prévia do inoculo. A fonte de carbono utilizada foi acetato de sódio em uma concentração de 1.280 mg $\text{O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ (em termos de DQO) em um meio enriquecido com nutrientes. Aos ensaios da ETAPA B também foi adicionado sulfato de sódio em uma relação $[\text{DQO}]/[\text{SO}_4^{2-}] = 0,67$. Foram analisados a remoção de matéria orgânica, o pH, sulfeto total dissolvido (STD), produção de metano e de sulfeto de hidrogênio, a atividade metanogênica específica (AME), além da produção de ácidos orgânicos voláteis totais, e a concentração de cádmio livre no sistema. A concentração de equilíbrio de cádmio foi estabelecida rapidamente. O processo de adsorção foi ajustado à isoterma de Freundlich, a bioprecipitação foi pouco expressiva em ambas as etapas. A cinética foi ajustada à primeira ordem aparente, verificou-se que o tempo de ocorrência da AME apresentam relação linear com a concentração de cádmio no adsorvente, no caso a biomassa. O ensaio com maior concentração de cádmio apresentou um atraso temporal do início da atividade catalítica, embora todos os ensaios tenham apresentado uma boa eficiência de remoção da matéria orgânica disponível (acima de 99%).

Palavras-chaves: processos anaeróbios, metanogênese, sulfetogênese, cádmio, toxicidade, bioprecipitação, reator de batelada simples

ABSTRACT

MARTINS, M.F.T. Effect of increasing concentrations of Cadmium (Cd^{2+}) on anaerobic process in the removal of organic material and sulphate. 81 p. Bachelor Thesis, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

This work aimed to study the influence of the acute contamination by cadmium ion at different concentrations (5, 10, 25, 100 $\text{mg Cd}^{2+} \cdot \text{L}^{-1}$) in methanogenic activity (step 1) and sulfidogenic activity (step 2). The experiments were conducted in single batches reactors along 60 hours at 30° C. Inoculum of UASB with methanogenic characteristics was used. No adaptation time of the inoculum was performed. The carbon source used was sodium acetate at a concentration of 1,280 $\text{mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ (in terms of COD) in a nutrient enriched medium. In step 2 experiments were also added sodium sulfate in a ratio $[\text{DQO}]/[\text{SO}_4^{2-}] = 0.67$. Organic matter removal, pH, total dissolved sulfide (TDS), production of methane and hydrogen sulfide, specific methanogenic activity (SMA), production of total volatile organic acids, and concentration of free cadmium were analyzed. The equilibrium concentration of cadmium was established quickly. The adsorption process was adjusted to the Freundlich isotherm, the bio-precipitation was not significant in both steps. The kinetics was adjusted to apparent first order, and it was found that the time of occurrence of SMA exhibit a linear relationship with the cadmium concentration in the adsorbent, in this case the biomass. The experiments with the highest concentration of cadmium showed a temporal delay at the onset of catalytic activity, although all tests have shown a good removal efficiency of available organic matter (above 99%).

Key-Words: anaerobic processes, methanogenesis, sulfidogenesis, cadmium, toxicity, bio-precipitation, simple batch reactor

SUMÁRIO

1	Introdução	1
2	Revisão Bibliográfica	5
2.1	Metais pesados	6
2.2	Mecanismos de remoção de metais pesados	9
2.3	Toxicidade de metais pesados em sistemas microbiológicos.....	11
2.4	Digestão anaeróbia	12
2.4.1	Hidrólise	13
2.4.2	Acidogênese	14
2.4.3	Acetogênese.....	14
2.4.4	Metanogênese	15
2.5	Digestão anaeróbia com redução de sulfato	22
2.5.1	Sulfetogênese.....	23
2.6	Atividade metanogênica específica	27
2.7	Isotermas de adsorção	30
2.8	Considerações finais.....	32
3	Objetivos e Hipóteses	33
4	Materiais e Métodos	37
4.1	Planejamento experimental	37
4.2	Inoculo.....	38
4.3	Meio sintético	38
4.4	Procedimento experimental.....	39

4.5	Análises cromatográficas e físico-químicas	40
4.6	Isotermas de adsorção.....	42
4.7	Cinética de degradação	43
4.8	Sulfeto de hidrogênio em fase gasosa.....	44
4.9	Metano em fase gasosa	45
4.10	Produção molar específica de gases.....	46
4.11	Atividade metanogênica e sulfetogênica específica	46
5	Resultados e Discussão	49
5.1	Atividade dos íons Cd^{2+} e ajuste às isotermas	50
5.2	Etapa metanogênica (ETAPA A)	52
5.3	Etapa sulfetogênica (ETAPA B).....	59
5.4	Considerações finais	66
6	Conclusões	71
7	Referências Bibliográficas	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Danos potenciais da contaminação por metais pesados	7
Tabela 4.1 – Planejamento experimental	37
Tabela 4.2 – Características do lodo	38
Tabela 4.3 – Composição da solução de nutrientes	38
Tabela 4.4 – Composição da solução traço de metais para todas as condições	39
Tabela 4.5 – Análises físico-químicas realizadas.....	42
Tabela 5.1 – Resultados dos ajustes à isoterma de Freundlich	51
Tabela 5.2 – Concentrações de cádmio para cada condição experimental	52
Tabela 5.3 – Parâmetros de ajuste cinético para ETAPA A.....	56
Tabela 5.4 – Resultados de ácidos voláteis intermediários para ETAPA A	57
Tabela 5.5 – Coeficiente de ajuste, AME e tempo de AME para a produção de metano.....	58
Tabela 5.6 – Parâmetros de ajuste cinético para ETAPA B.....	62
Tabela 5.7 – Resultados de ácidos voláteis intermediários para ETAPA B	63
Tabela 5.8 – Coeficiente de ajuste, AME e tempo de AME para a produção de metano.....	64
Tabela 5.9 – Coeficiente de ajuste, ASE e tempo de ASE para a produção de sulfeto de hidrogênio para ETAPA B	65
Tabela 5.10 – Coeficiente de angular, coeficiente linear e R^2	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1. Sequências metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia (adaptado de Chernicharo, 1997)	13
Figura 2.2. Metanogênese autotrófica (adaptado de Madigan <i>et al</i> , 2010)	17
Figura 2.3. Metanogênese metilotrófica (adaptado de Madigan <i>et al</i> , 2010)...	19
Figura 2.4. Metanogênese acetoclástica (adaptado de Madigan <i>et al</i> , 2010) ...	21
Figura 2.5. Sequências metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia com redução de sulfato (adaptado de Chernicharo, 1997)	22
Figura 2.6. Redução biológica do sulfato por BRS (adaptado de Madigan <i>et al</i> , 2010).....	24
Figura 2.7. Diagrama de especiação de sulfeto de hidrogênio em função do pH na fase aquosa.....	27
Figura 2.8. Representação da produção específica acumulada de metano (linha preta) e sua respectiva AME dada pela máxima inclinação da curva (linha vermelha)	28
Figura 3.1. Diagrama para a hipótese 1	34
Figura 3.2. Diagrama para a hipótese 2	35
Figura 5.1. Concentrações de Cd^{2+} livre após estabelecido o equilíbrio.....	50
Figura 5.2. Ajustes à isoterma de Freundlich para a ETAPA A e B	51
Figura 5.3. Valores de pH em <i>box plot</i> para as condições experimentais da ETAPA A	53
Figura 5.4. Valores de pH em função do tempo para cada condição da ETAPA A.....	53
Figura 5.5. Concentração de matéria orgânica em termos de DQO (■) e ácido acético (▲) para cada ensaio da ETAPA A	55

Figura 5.6. Produção molar de metano específica (▲-eixo canhoto), ajuste a sigmoide de Boltzmann (eixo canhoto), e derivada primeira ordem (eixo destro) para ETAPA A..... 58

Figura 5.7. Valores de pH em *box plot* para as condições experimentais da ETAPA B 59

Figura 5.8. Valores de pH em função do tempo para cada condição da ETAPA B 60

Figura 5.9. Concentração de matéria orgânica em termos de DQO (■) e ácido acético (▲) para cada ensaio da ETAPA B 61

Figura 5.10. Produção molar de metano específica (▲-eixo canhoto), ajuste a sigmoide de Boltzmann (eixo canhoto), e derivada primeira ordem (eixo destro) para ETAPA B 64

Figura 5.11. Produção molar de sulfeto de hidrogênio específica (■-eixo canhoto), ajuste à sigmoide de Boltzmann (eixo canhoto), derivada primeira ordem (eixo destro) para ETAPA B 65

Figura 5.12. Produção molar de metano específica (▲-eixo canhoto), ajuste a sigmoide de Boltzmann (eixo canhoto), e derivada primeira ordem (eixo destro)..... 67

Figura 5.13. Tempo de ocorrência da AME e ASE em função da concentração de cádmio adsorvido para a atividade metanogênica na ETAPA A (■-eixo canhoto), na ETAPA B (▲-eixo canhoto), e atividade sulfetogênica na ETAPA B (●-eixo destro) 68

LISTA DE NOMENCLATURA E SIGLAS

AME	Atividade Metanogênica Específica
ASE	Atividade Sulfetogênica Específica
AVT	Ácidos Voláteis Intermediários Totais
BRS	Bactérias Redutoras de Sulfato
CNTP	Condições Normal de Temperatura e Pressão (273 K e 1 bar)
DQO	Demanda Química de Oxigênio
SFT	Sólidos Fixos Totais
ST	Sólidos Totais
STD	Sulfeto Total Dissolvido
SVT	Sólidos Voláteis Totais

1 INTRODUÇÃO

“Tame birds sing of freedom. Wild birds fly.”

John Lennon

Com o aumento das atividades industriais os sistemas naturais têm recebido cada vez mais resíduos contendo metais pesados, que exercem um efeito deletério nesses recursos. Dentre as atividades que mais geram este tipo de resíduo, destacam-se as operações de mineração, resíduos da indústria metalúrgica e de refino de metais, a produção de baterias e acumuladores de energia, e ainda as indústrias de tratamento de superfície e galvanização.

Os metais pesados, a princípio, foram assim chamados por apresentarem uma alta densidade quando comparados aos metais comuns (superiores a $5,0 \text{ g.cm}^{-3}$). Embora grande parte dos metais e semi-metais possam ter um papel no aporte de nutrientes necessário para a vida dos organismos, o termo "metal pesado" por sua vez passou a ser utilizado quando relacionado à poluição e a efeitos de toxicidade.

A presença de metais pode ser benéfica ou tóxica para o meio ambiente. A biota necessita alguns destes elementos considerados essenciais, como ferro (Fe), zinco (Zn), cobre (Cu) ou molibdênio (Mo) em quantidades vestigiais ou traços, mas em concentrações mais elevadas podem tornar-se tóxicos. Outros metais pesados como cádmio (Cd), cromo (Cr), mercúrio (Hg), chumbo (Pb), alumínio (Al), prata (Ag), e estanho (Sn) podem causar sérios problemas para todos os organismos, mesmo em quantidades vestigiais.

Os efeitos deletérios causados pelos metais pesados aos organismos são potencializados em decorrência da bioacumulação desses íons no decurso da cadeia

alimentar, representando então um problema sério ao homem e outros animais que se situam no topo da cadeia.

Dentre os metais pesados que mais apresentam efeitos tóxicos, o cádmio destaca-se por ser largamente empregado na fabricação de baterias e pilhas, e na galvanoplastia (como revestimento), como catalisador, pigmentação, tintas, foto-sensores, lubrificantes, ligas metálicas, soldas, televisores, semicondutores e como estabilizantes de plásticos, como o PVC.

Além disso, o cádmio é um dos metais pesados com maior mobilidade em solos, ou seja, apresenta o maior risco de contaminação de sistemas ambientais adjacentes, além de poder contaminar águas subterrâneas.

Como resultado da larga aplicação industrial de cádmio, a forma de condicionamento dos resíduos contendo este contaminante e a aplicação de um processo de recuperação desse metal devem ser levadas em consideração na aplicação desses processos industriais.

Assim, as formas de eliminação destas substâncias dos efluentes são alvo de pesquisa crescente. Essas formas de eliminação destas substâncias dos efluentes variam muito, embora sejam mais difundidos os tratamentos físico-químicos, como por exemplo, a precipitação dos íons em compostos insolúveis, a oxidação/redução dos íons a formas mais ambientalmente estáveis e menos perigosas ou a adsorção em carvão ativado granular ou em pó ou em resina ativada. Tais tratamentos são eficientes, porém muito específicos e dispendiosos devido ou a adição de outros compostos ou mesmo de recursos energéticos para que o tratamento se faça efetivo.

Como alternativa, são estudadas formas de eliminação destas substâncias dos efluentes através de processos biológicos, como, por exemplo, por adsorção em

plantas ou micro-organismos, e a bioprecipitação através do H_2S produzido por bactérias redutoras de sulfato (BRS). Entretanto, tais alternativas devem ser abordadas com cautela, já que metais pesados como cádmio não possuem função conhecida em sistemas biológicos e podem ser estimulantes, inibidores ou até tóxicos para reações bioquímicas, dependendo das suas concentrações.

A influência de metais pesados é amplamente estudada em diferentes processos microbiológicos. A ocorrência de uma carga de choque como uma contaminação aguda, pode expor um sistema biológico como os processos anaeróbios a uma condição de resiliência. A intensidade desse choque é determinante à possibilidade de recuperação do sistema, podendo a carga de choque ser inferida de modo a estabelecer medidas preventivas. Em sistemas anaeróbios, metais pesados são inibitórios aos micro-organismos, incluindo metanogênicos e redutores de sulfato. Assim, metais pesados podem ter efeitos adversos em micro-organismos anaeróbicos e reduzir ou impedir a performance de remoção biológica de metais.

Neste contexto, o presente estudo propõe a averiguação do efeito inibitório, em processo anaeróbio metanogênico e em processo anaeróbio sulfetogênico, da contaminação aguda por cádmio (II) em diferentes concentrações na cinética do consumo de acetato e na atividade metanogênica.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

“Ohne Musik wäre das Leben ein Irrtum.”

Friedrich Nietzsche

No presente capítulo, são abordados os fundamentos teóricos para realização desse trabalho, desde a definição do escopo, das hipóteses, dos objetivos e da abordagem teórica e prática. Primeiramente, é apresentada a problemática em relação a metais pesados, com o foco o cádmio que foi o contaminante escolhido para causar a perturbação no sistema experimental.

A seguir, é discorrido sobre os mecanismos de remoção de metais pesados de águas residuárias, e também apresentados os potenciais danos em tais sistemas microbiológicos causados pelo cádmio e outros metais pesados estudados pela bibliografia.

Em seguida, é fundamentado o embasamento teórico para realização do trabalho, iniciando pela definição de anaerobiose bacteriana e digestão anaeróbia, sendo apresentadas a atividade metanogênica e a atividade sulfetogênica, as vias metabólicas de cada uma, e o processo de redução de sulfato por bactérias redutoras de sulfato (BRS), processos em foco desse trabalho.

Posteriormente, o conceito de Atividade Metanogênica Específica (AME) é apresentado, o que surge como ferramenta de avaliação das atividades produtoras de gases na abordagem experimental. Também, são apresentadas as isotermas de adsorção, ferramentas que podem ser usadas para mensurar e inferir o grau de contaminação impostos aos micro-organismos do sistema experimental.

Por fim, considerando a revisão realizada, são fundamentadas as hipóteses e apresentadas justificativas para o objetivo e execução desse trabalho.

2.1 *Metais pesados*

Os metais pesados constituem originalmente um grupo de metais com uma densidade superior a $5,0 \text{ g.cm}^{-3}$, tais como o arsênio (As), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cromo (Cr), estanho (Sn), mercúrio (Hg), e prata (Ag). Esses são importantes poluentes ambientais, particularmente em áreas onde há alta pressão antrópica. A presença de metais pesados na atmosfera, solo e água - mesmo em concentrações vestigiais - pode causar sérios problemas a todos os organismos, e bioacumulação de metais pesados na cadeia alimentar pode ser altamente perigoso (di Toppi e Gabrielli, 1999).

Assim, o termo ‘metal pesado’ tem sido geralmente usado em referência a metais e a semi-metais, que são associadas à poluição e toxicidade, mas também inclui alguns elementos que são nutrientes essenciais para as células em baixas concentrações (Grantão *et al*, 2005); incluindo o alumínio (Al), o bário (Ba) e o selênio (Se). Diversos são os danos à saúde humana causados pelos metais pesados, aqueles advindos da contaminação por Cd são apresentados posteriormente. A Tabela 2.1 apresenta os danos potencialmente causados pela contaminação por Al, As, Ba, Pb, Cr, Sn, Hg, Ag, e Sn.

Tabela 2.1 – Danos potenciais da contaminação por metais pesados

	Al	As	Ba	Pb	Cr	Sn	Hg	Ag	Se
Náusea, vômito, dores de cabeça, mal estar e diarreia	X	X	X			X	X		X
Desorientação, tontura, perda de memória e falta de coordenação dos movimentos	X					X	X		
Dificuldade respiratória			X		X	X			X
Alteração da pressão sanguínea			X	X					
Cólica abdominal			X						
Cólica estomacal						X		X	X
Irritação e danos a pele		X				X	X	X	
Redução da produção de células brancas		X				X			
Redução da produção de células vermelhas		X		X		X			
Danos ao sistema respiratório					X		X	X	X
Danos ao sistema nervoso e cérebro	X			X		X	X		
Danos ao sistema excretor	X				X	X			
Danos ao sistema circular		X					X		
Câncer	X	X		X	X		X		
Anomalias cromossômica						X	X		
Morte		X		X					

A exposição crônica de seres humanos a prata pode levar a uma condição permanente chamada argiria, que consiste em uma descoloração azul-cinza da pele e outros tecidos corporais, a qual acredita-se que tal condição não seja prejudicial para a saúde (Martin e Griswold, 2009).

Embora o selênio seja um nutriente traço importante para os seres humanos, por exemplo, no funcionamento da glândula tireoide, a exposição crônica a esse metal pesado pode causar selenosis, uma doença que leva a perda de cabelo, fragilidade nas unhas, e anormalidades neurológicas (Martin e Griswold, 2009).

Além disso, acredita-se que o alumínio possa estar relacionado ao desenvolvimento da doença de Alzheimer (Miquel, 2001).

Cádmio (Cd)

O cádmio ($8,6 \text{ g.cm}^{-3}$) é um metal pesado muito difundido, liberado no meio ambiente por estações de energia elétrica, sistemas de aquecimento, indústrias de metais, incineradores de resíduos, tráfego urbano, fábricas de cimento e, também, como um subproduto de fertilizantes fosfatados. Em áreas com baixa pressão antrópica, cádmio pode ser liberado como resultado de processos de mineralização de rochas (di Toppi e Gabbrielli, 1999; Benavides *et al*, 2005; e Grantão *et al*, 2005). A acumulação de cádmio nos solos pode se tornar perigoso para todos os tipos de organismos (di Toppi e Gabbrielli, 1999).

O cádmio é um elemento não essencial, que é considerado o metal pesado mais tóxico, capaz de causar um efeito negativo significativo sobre o metabolismo das plantas em geral (Benavides *et al* 2005; Grantão *et al* 2005). A sua presença na atmosfera, no solo e na água pode causar sérios problemas para todos os organismos, e a bioacumulação na cadeia alimentar pode ser altamente perigosa (Raskin *et al*, 1997 e di Toppi e Gabbrielli, 1999).

Altas concentrações de cádmio foram consideradas como cancerígena, mutagênica e teratogênica para um grande número de espécies animais (Degraeve, 1981). O cádmio é citado por causar câncer de próstata e pulmão; fumantes estão sucessivos a quantidades significativamente maiores de cádmio do que não fumantes (Martin e Griswold, 2009). O cádmio é considerado um carcinógeno humano classe 1 pela Agência Internacional para Pesquisa sobre Câncer (IARC, 1993).

Os seres humanos são suscetíveis à toxicidade de íons cádmio principalmente através da ingestão de alimentos ou água contaminados. A ingestão pode causar irritações estomacais, levando a vômito e diarreia, além disso a exposição crônica leva a insuficiência renal, adoecimento dos rins, danos nos pulmões, e fragilização da estrutura óssea (Martin e Griswold, 2009).

Segundo di Toppi e Gabbrielli (1999), até 1980, a atenção foi concentrada especialmente na toxicidade do cádmio para os seres humanos, uma vez que este metal se acumula e apresenta uma longa meia-vida biológica de 2 a 3 décadas. A toxicidade do cádmio pode provocar dano mitocondrial e culmina com a morte celular por apoptose ou por necrose, ou ainda, esta última resultando de inflamação e fibrose do tecido (Thijssen *et al*, 2007). É um dos quatro metais que foram mencionados a ser uma preocupação mundial, em termos da sua importância na qualidade ambiental e de saúde (di Toppi e Gabbrielli, 1999).

2.2 *Mecanismos de remoção de metais pesados*

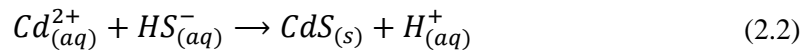
Diversos mecanismos de remoção de metais pesados de águas residuárias, como o cádmio, são largamente estudados e aplicados na atualidade, diferenciando-se principalmente entre mecanismos físico-químicos e mecanismos biológicos. Os mecanismos mais comumente aplicados ao tratamento de águas residuárias são os que proporcionam a indisponibilização biológica de tais metais.

A precipitação de íons na forma de sais insolúveis e a oxidação/redução dos íons a formas estáveis pelo uso de químicos, a adsorção em carvão ativado granular ou em pó, ou em resina ativada são exemplos de mecanismos físico-químicos. Tais tratamentos são, geralmente, eficientes, porém muito específicos e muitas vezes caros,

geralmente devido à adição de outros compostos para que haja o tratamento (Lester, 1987).

Apesar do baixo custo relativo de mecanismos biológicos de remoção de cádmio, em comparação com mecanismos físico-químicos, os mecanismos biológicos são pouco abordados na literatura, talvez pela dificuldade das comunidades microbianas em desenvolverem-se em meios cuja concentração desses metais é elevada. Além disso, tais metais não são metabolizados, o que torna o processo biológico, a priori, desinteressante. Grande parte dos efluentes de atividades que emitem íons de metais pesados possui baixa carga orgânica, o que, consequentemente, dificulta ainda mais a aplicação de um processo biológico (Mockaitis, 2011).

A precipitação de cádmio na forma de sal insolúvel de sulfeto de cádmio, CdS, é uma forma de tornar o cádmio biologicamente indisponível. Desta maneira, a geração de sulfeto biogênico pelas bactérias redutoras de sulfato (BRS) possibilita uma forma biológica indireta de tornar os íons metálicos indisponíveis (Mockaitis, 2011). As equações de formação de sulfeto de cádmio são apresentadas nas Equações 2.1 e 2.2, adaptadas de Lewis (2010).



Além desse, a adsorção do cádmio na biomassa é também um mecanismo biológico de remoção desse metal pesado, isotermas de adsorção podem ser utilizadas para modelar a adsorção de metais pesados como o cádmio na biomassa, e também, verificar a efetiva concentração de cádmio livre na qual a biomassa estava submetida.

Pagnanelli *et al* (2010) estudou os mecanismos de bioissorção e bioprecipitação do cádmio por BRS em batelada com meio complexo e concluiu que de todo cádmio removido, 23% foi através da bioprecipitação e 77% através da bioissorção.

2.3 *Toxicidade de metais pesados em sistemas microbiológicos*

Quanto a potencial toxicidade do cádmio e outros metais pesados aos micro-organismos presentes em sistemas aquáticos, Fang e Hui (1994) estudaram o efeito do níquel, zinco, cobre, cromo e cádmio na atividade metanogênica específica (AME) de lodo granular na degradação de amido e concluiu que o cádmio é o metal pesado que apresenta menor toxicidade, tendo a sua AME inibida em 50% com concentrações acima de 400 mg Cd²⁺.g SSV⁻¹.

Altaş (2009) estudou a influência de zinco, níquel, cromo e cádmio na degradação de glucose e na atividade metanogênica de biomassa granular em contaminação crônica e concluiu que em concentrações acima de 32 mg.L⁻¹ há uma redução da atividade metanogênica, sendo o cádmio o metal pesado com menor capacidade de inibição e que apesar a baixa resistência da biomassa essa mostrou uma boa capacidade de recuperação.

Codina *et al* (1998) estudaram o efeito de metais pesados na produção de metano e concluiu que os metais zinco, cromo, cobre, cádmio, níquel e chumbo apresentam-se em ordem decrescente de toxicidade em comunidades bacterianas anaeróbias.

A bibliografia cita que os consórcios microbianos anaeróbios apresentam alta resistência à contaminação por cádmio devido à microestrutura de camadas dos grânulos (MacLeod *et al*, 1990; Fang e Chui, 1993b; Fang e Kwong, 1994; e Fang e Hui, 1994).

Entretanto, poucos são os trabalhos que se propõe a avaliar os efeitos tóxicos de metais pesados em sistemas específicos, como a metanogênese acetoclástica e a sulfetogênese acetoclástica, objetivo desse trabalho.

2.4 Digestão anaeróbia

A diversidade metabólica dos micro-organismos pode ser dividida em anabólica e catabólica. Essa diversidade pode também ser dividida conforme o método de obtenção de energia, alguns organismos possuem a habilidade de produzir compostos orgânicos a partir da energia luminosa (fototróficos), da energia de compostos inorgânicos (quimiolitotróficos), realizando a fixação de carbono e nitrogênio (anabolismo). Enquanto outros obtêm energia para o seu metabolismo através do catabolismo de compostos orgânicos, como por exemplo a fermentação (fosforilação em nível de substrato), e a respiração anaeróbia (fosforilação oxidativa), para realizar seu crescimento celular através do anabolismo (Madigan *et al*, 2010).

No processo de conversão da matéria orgânica em condições de ausência de oxigênio são utilizados aceptores de elétrons inorgânicos como NO_3^- (redução de nitrato), SO_4^{2-} (redução de sulfato), ou CO_2 (formação de metano). Sendo que a formação de metano não ocorre em ambientes onde oxigênio, nitrato ou sulfato encontram-se prontamente disponíveis como aceptores de elétrons (Chernicharo, 1997).

Segundo Chernicharo (1997), a digestão anaeróbia é considerada um processo de dois estágios que configura uma interação comensal, separável em dois estágios gerais:

a) o primeiro estágio fermentativo, converte orgânicos complexos como carboidratos, proteínas e lipídios em materiais orgânicos mais simples, principalmente ácidos voláteis, através da hidrólise e fermentação;

b) o segundo estágio metanogênico, converte dos ácidos orgânicos, gás carbônico, e hidrogênio em produtos finais gasosos, como o metano e o gás carbônico.

Os grupos que participam do processo de decomposição anaeróbia podem ser divididos em três importantes grupos de bactérias: bactérias fermentativas, bactérias acetogênicas e arqueias metanogênicas (Chernicharo, 1997).

A bibliografia cita que o processo de digestão anaeróbia de compostos orgânicos complexos ocorre em quatro fases distintas: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese, descritas a seguir e representadas na Figura 2.1.

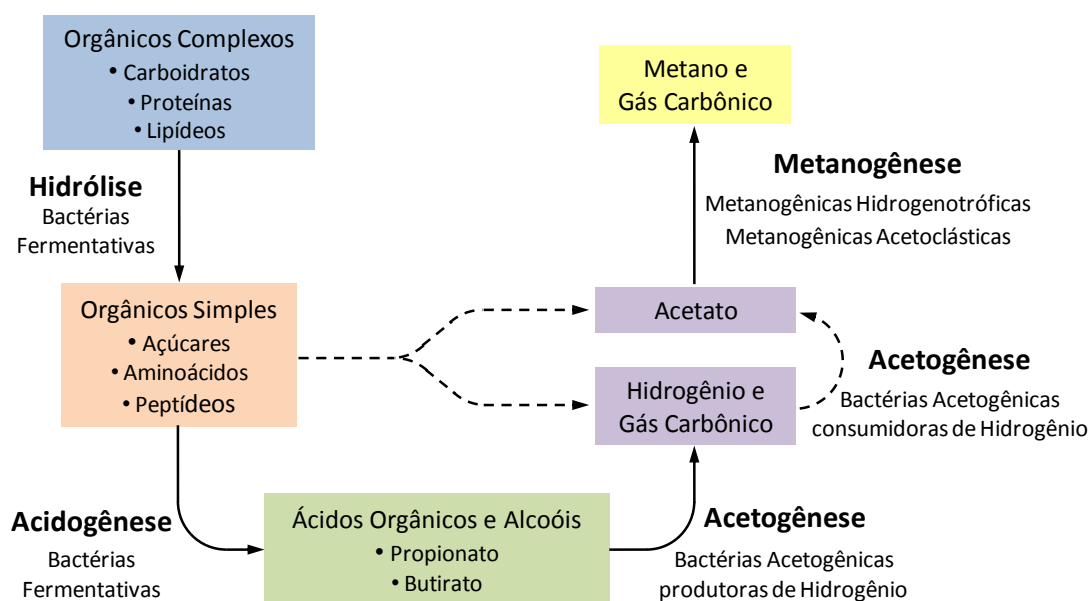


Figura 2.1. Sequências metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia (adaptado de Chernicharo, 1997)

2.4.1 Hidrólise

Uma vez que as bactérias não são capazes de assimilar a matéria orgânica particulada, a primeira fase no processo de degradação anaeróbia consiste na hidrólise

de materiais particulados complexos em materiais dissolvidos mais simples, os quais podem atravessar as paredes celulares das bactérias fermentativas. Esta conversão de materiais particulados em materiais dissolvidos é conseguida através da ação de exoenzimas excretadas pelas bactérias fermentativas hidrolíticas (Chernicharo, 1997).

Segundo Lettinga *et al* (1996)¹ *apud* Chernicharo (1997), na anaerobiose, a hidrólise dos polímeros usualmente ocorre de forma lenta, sendo vários os fatores que podem afetar o grau e a velocidade em que o substrato é hidrolisado: temperatura, tempo de residência, composição do substrato, tamanho das partículas, pH do meio, concentração de amônio, e concentração de produtos da hidrólise.

2.4.2 Acidogênese

Os produtos solúveis da hidrólise atravessam as paredes celulares das bactérias fermentativas e são então convertidos em compostos mais simples, como ácidos graxos voláteis, alcoóis, ácido láctico, gás carbônico, hidrogênio, amônia e sulfeto de hidrogênio; também são geradas novas células bacterianas (Chernicharo, 1997).

A maioria das bactérias acidogênicas é anaeróbia estrita, mas uma pequena parcela dessas são bactérias facultativas que podem oxidar o substrato orgânico por via oxidativa (Chernicharo, 1997).

2.4.3 Acetogênese

A oxidação dos produtos gerados na fase acidogênica é realizada pelas bactérias acetogênicas, gerando o substrato à fase metanogênica, sendo então essa uma fase intermediária (Chernicharo, 1997).

Segundo Chernicharo (1997), durante a formação dos ácidos acético e propiônico, uma grande quantidade de hidrogênio é produzida, que pode causar a

¹ LETTINGA, G. Introduction. In: International course on anaerobic treatment. Wageningen Agricultural University / IDE Delft. Wageningen, 17-28. 1995.

acidificação do meio aquoso. Esse hidrogênio pode ser consumido por dois meios distintos:

- c) a formação de ácidos orgânicos, tais como propiônico e butírico, ácidos formados através da reação do hidrogênio com dióxido de carbono e ácido acético;
- d) a produção de metano pelas bactérias metanogênicas hidrogenotróficas.

Apenas o hidrogênio e o acetato podem ser utilizados pelas arqueias metanogênicas, embora 50% da DQO biodegradável é convertida em propionato e butirato, esses são posteriormente convertidos a acetato e hidrogênio pela ação das bactérias acetogênicas (Chernicharo, 1997).

2.4.4 Metanogênese

A metanogênese é a última fase da degradação anaeróbia e é realizada por um grupo de micro-organismos anaeróbios estritos, ou seja, sensíveis a presença de oxigênio, pertencentes ao domínio *Archaea*, denominados metanogênicos Madigan *et al* (2010).

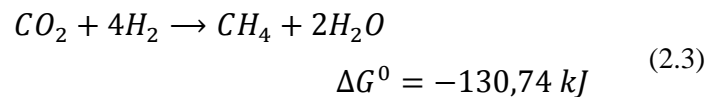
Apesar dessa sensibilidade, as *archeas* responsáveis pela metanogênese são comuns na natureza e crescem sobre os produtos finais do metabolismo de outros organismos com os quais eles existem em cultura mista. As *archeas* dependem desses organismos, principalmente os fermentativos, que mantém o potencial redox baixo ($ORP < -300 \text{ mV}$) (Bruce *et al*, 1986).

Segundo Chernicharo (1997), a fase metanogênica representa o fator limitante no processo de digestão anaeróbia, isso se dá pelo fato das *archeas* metanogênicas serem responsáveis pela maior parte da degradação do resíduo, aliado a sua baixa velocidade de crescimento quando comparadas aos outros grupos microbianos envolvidos, e também devido a utilização de ácidos gerados pelas fase anteriores.

A produção biológica de metano tem como principais doadores de elétrons (substratos) o hidrogênio e o acetato, embora metanol e formiato possam também ser utilizados. Assim a metanogênese pode ser dividida em: metanogênese acetoclástica, metanogênese metilotrófica, e metanogênese hidrogenotrófica (Chernicharo, 1997).

(a) Metanogênese autotrófica

A metanogênese autotrófica é realizado a redução do CO_2 e formação de CH_4 por diversos gêneros bacterianos, sendo os mais frequentemente isolados em reatores anaeróbios: *Methanobacterium*, *Methanospirillum*, e *Methanobrevibacter* (Chernicharo, 1997). A Equação 2.3 mostra a reação global desse processo.



Os elétrons dessa via metabólica são originários principalmente do H_2 (metanogênese hidrogenotrófica), mas formiato, monóxido de carbono e até certos compostos orgânicos, como álcoois, podem também fornecer elétrons para a redução do CO_2 em alguns organismos metanogênicos. A Figura 2.2 resume esse processo.

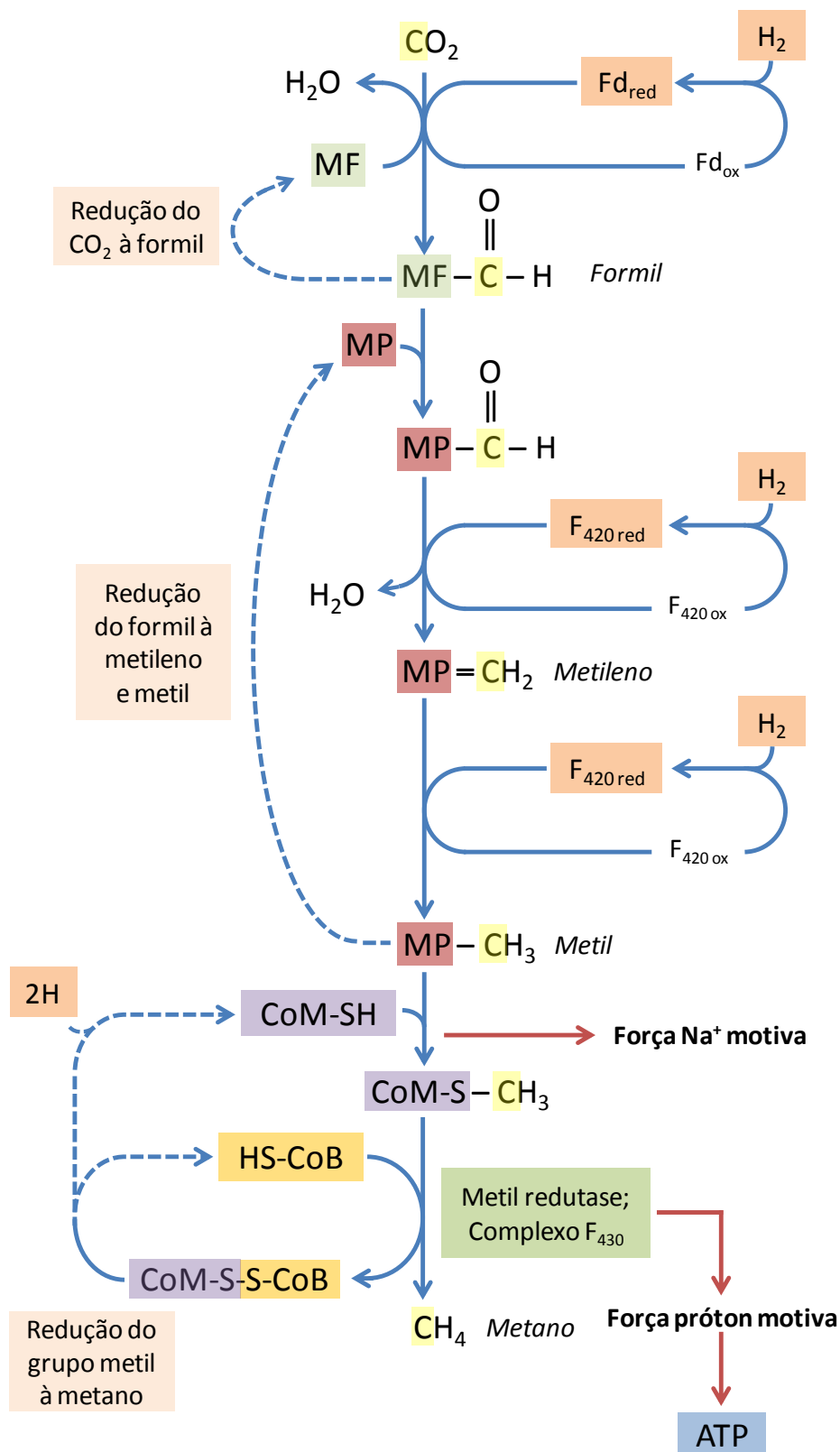


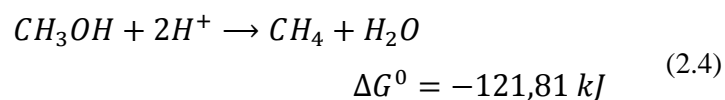
Figura 2.2. Metanogênese autotrófica (adaptado de Madigan *et al*, 2010)

Madigan *et al* (2010) apresentaram uma descrição da bioquímica envolvida no processo, no qual o CO_2 é ativado por uma enzima contendo metanofurano (MF) e

reduzido a formil. O doador imediato de elétrons é a ferredoxina (Fd_{ox}), uma proteína redox que tem potencial redutor muito baixo. O grupo formil é transferido do metanofurano para uma enzima contendo metanopterina (MP), e então desidratado e reduzido em etapas distintas a metileno e metil, respectivamente. O doador imediato de elétrons é a coenzima F_{420} reduzida. O grupo metil é transferido da metanopterina para uma enzima contendo coenzima M. O metil-CoM é reduzido a metano pela enzima metil redutase, a coenzima F_{430} e a coenzima B (CoB) estão intimamente envolvidas. A coenzima F_{430} remove o grupo CH_3 do $CH_3 - CoM$, formando um complexo $Ni^{2+} - CH_3$. Esse complexo é reduzido por CoB, gerando CH_4 e um complexo dissulfeto de CoM e CoB ($CoM - S - S - CoB$). As CoM e CoB são regeneradas pela redução do complexo por H_2 .

(b) Metanogênese metilotrófica

A metanogênese metilotrófica ocorre com a redução de compostos metil como substrato, por exemplo o metanol, e formação de metano na obtenção de energia, mostrado pela Equação 2.4.



Essa via metabólica é realizada principalmente pelos gêneros *Methanosarcina*, *Methanosphaera*, *Methanolobus*, *Methanohalobium*, *Methanococcoides*, *Methanohalophilus*, e *Methanosalsum* (Madigan *et al*, 2010). A Figura 2.3 apresenta a via metabólica desse processo.

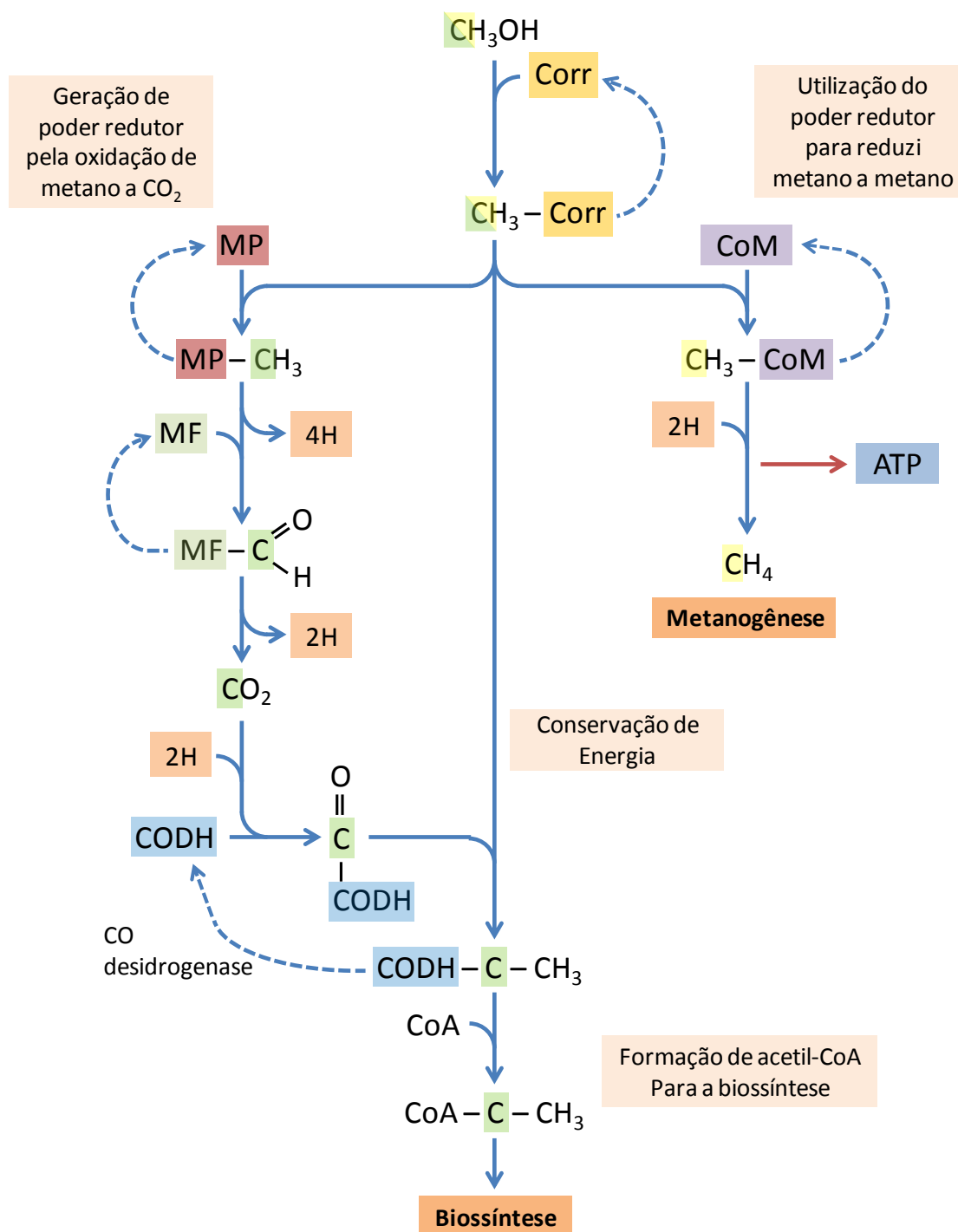


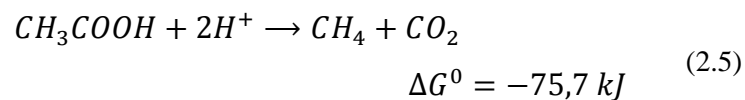
Figura 2.3. Metanogênese metilotrófica (adaptado de Madigan *et al*, 2010)

O processo é catabolizado pela doação dos grupos metil a uma proteína corrinoide (Corr), originando $\text{CH}_3\text{-Corr}$, que transfere o grupo metil à coenzima M, produzindo $\text{CH}_3\text{-CoM}$, a partir do qual o metano é formado do mesmo modo que a etapa final da redução do CO_2 (Madigan *et al*, 2010).

Quando não há poder redutor disponível para continuar o metabolismo, parte do metanol deve ser oxidada a CO_2 para promover a liberação de elétrons para geração de poder redutor, que ocorre pela reversão das etapas da metanogênese (Madigan *et al*, 2010).

(c) *Metanogênese acetoclástica*

A metanogênese acetoclástica ocorre com a redução do acetato e formação de metano. Essa via metabólica é realizada principalmente por dois gêneros principais, as *Methanosarcina* e as *Methanosaeta* (Chernicharo, 1997). Representada pela Equação 2.5.



Quando o acetato é o substrato da metanogênese há a formação de um mol de metano e um mol de gás carbônico por mol de acetato utilizado, a Figura 2.4 apresenta a metanogênese a partir do acetato.

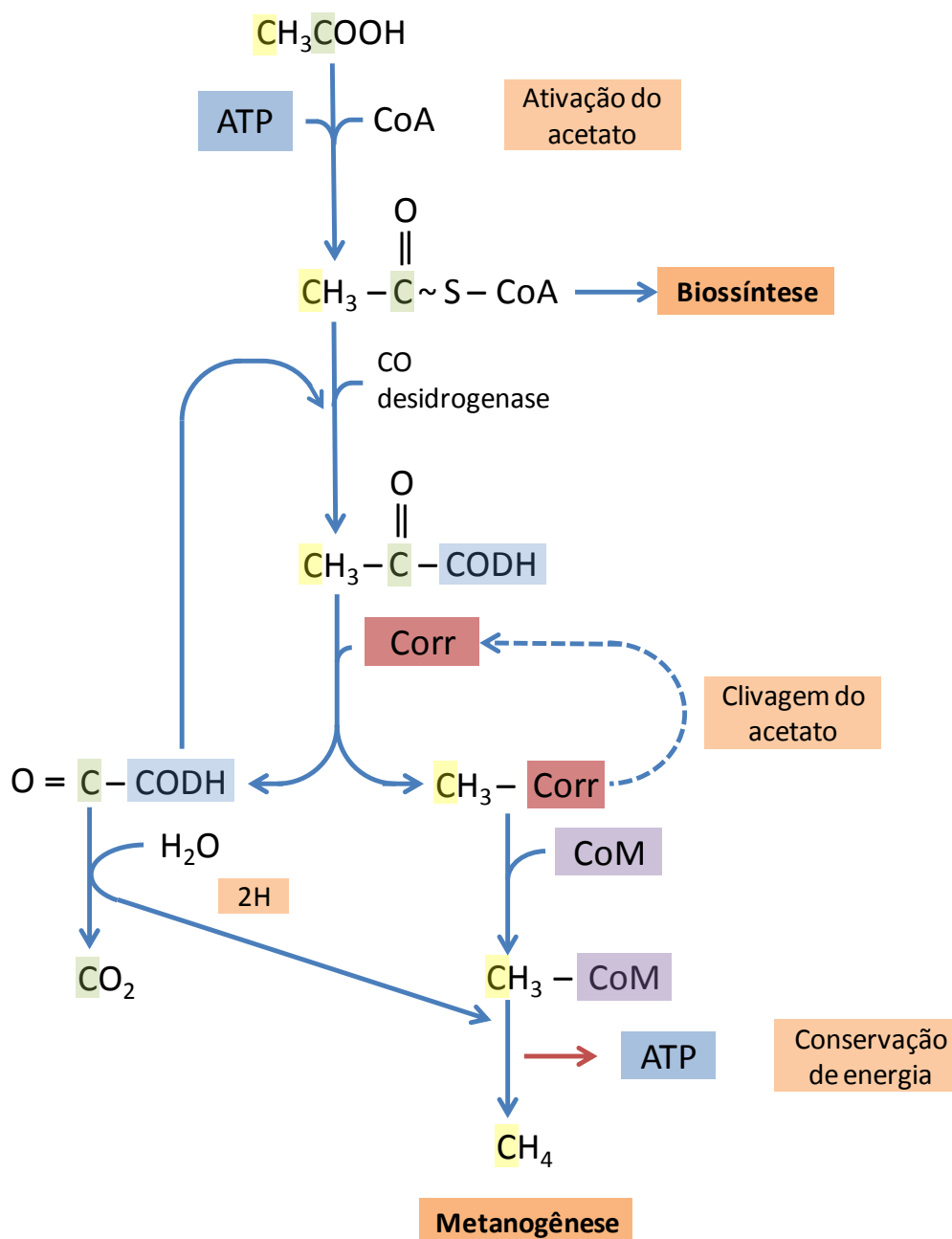


Figura 2.4. Metanogênese acetoclástica (adaptado de Madigan *et al*, 2010)

O processo é inicialmente ativado a acetil-CoA, que interage com monóxido de carbono desidrogenase da via do acetil-CoA. O grupo metil do acetato é então transferido à enzima corrinoide, produzindo CH_3 -corrinoide, e, a partir desse ponto, o grupo metil é conduzido à etapa terminal da metanogênese, mediada pela CoM. Simultaneamente, o grupo CO é oxidado, originando os produtos finais do catabolismo do acetato, CH_4 e CO_2 (Madigan *et al*, 2010).

2.5 Digestão anaeróbia com redução de sulfato

Quando compostos de enxofre estão presentes no meio, o processo de digestão anaeróbia pode ainda incluir uma fase adicional, a sulfetogênese, realizada por bactérias redutoras de sulfato (BRS), um grupo amplamente distribuído na natureza (Chernicharo (1997)). Dessa forma as bactérias sulforedutoras passam a competir com as bactérias fermentativas, acetogênicas e metanogênicas pelos substratos disponíveis (Muyzer & Stams, 2008).

É interessante o entendimento da interação entre BRS e Archaeas metanogênicas quando o sulfato presente é insuficiente para a completa oxidação da matéria orgânica. Em situações onde a relação $[DQO]/[SO_4^{2-}]$ está acima de 0,67, os processos sulfetogênico e metanogênico podem ocorrer simultaneamente e as BRS irão competir entre si pelo sulfato disponível (Muyzer & Stams, 2008). Abaixo deste valor, a sulfetogênese pode ser o processo predominante (Silva, 2005). A Figura 2.5 representa a digestão anaeróbia nesse caso.

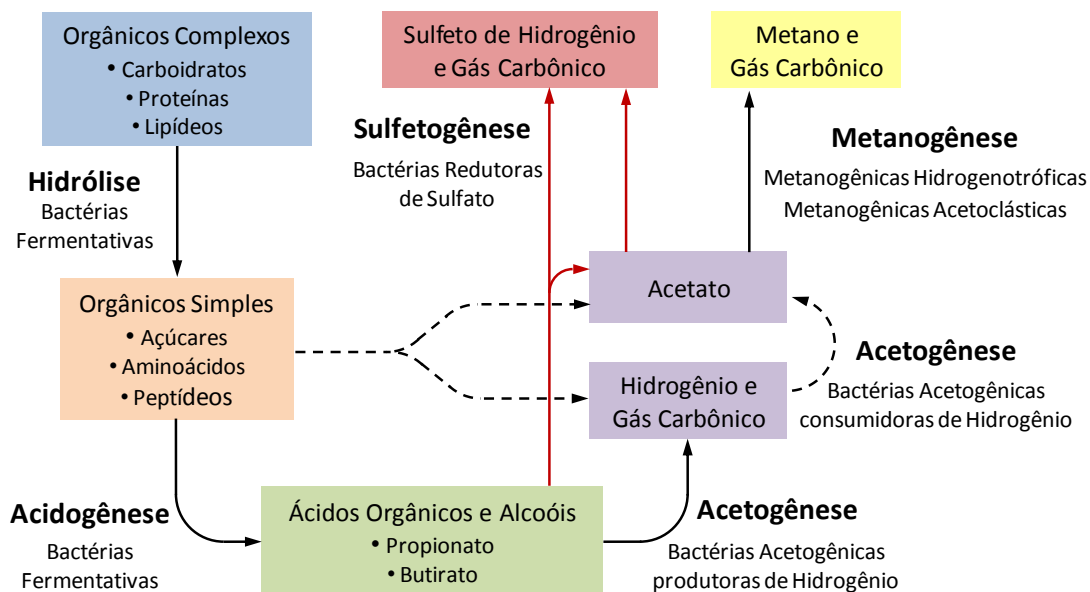
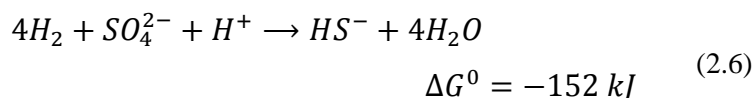


Figura 2.5. Sequências metabólicas e grupos microbianos envolvidos na digestão anaeróbia com redução de sulfato (adaptado de Chernicharo, 1997)

Nessa fase existem as BRS que oxidam seus substratos de forma incompleta até o acetato, e as que oxidam seus substratos (hidrogênio, acetato ou ácidos orgânicos) completamente até o sulfeto de hidrogênio (Chernicharo, 1997).

2.5.1 Sulfetogênese

A sulfetogênese consiste na utilização do sulfato como fonte de enxofre para as necessidades biossintéticas. A capacidade de utilizar o sulfato como um aceptor de elétrons exógeno nos processos geradores de energia envolvendo a redução do SO_4^{2-} em principalmente S^{2-} na degradação da matéria orgânica é um processo restrito as bactérias redutoras de sulfato (BRS). Apesar do nome que recebem, as BRS podem usar muitos outros aceptores finais de elétrons exógenos para seu crescimento e podem fermentar substratos na ausência de aceptores de elétrons inorgânicos (Muyzer & Stams, 2008). A Equação 2.6 mostra a reação global utilizando H_2 como doador de elétrons.



A redução do SO_4^{2-} a H_2S requer o transporte de oito elétrons e ocorre por meio de vários estágios intermediários e resulta na produção de sulfeto de hidrogênio, conforme apresentado pela Figura 2.6.

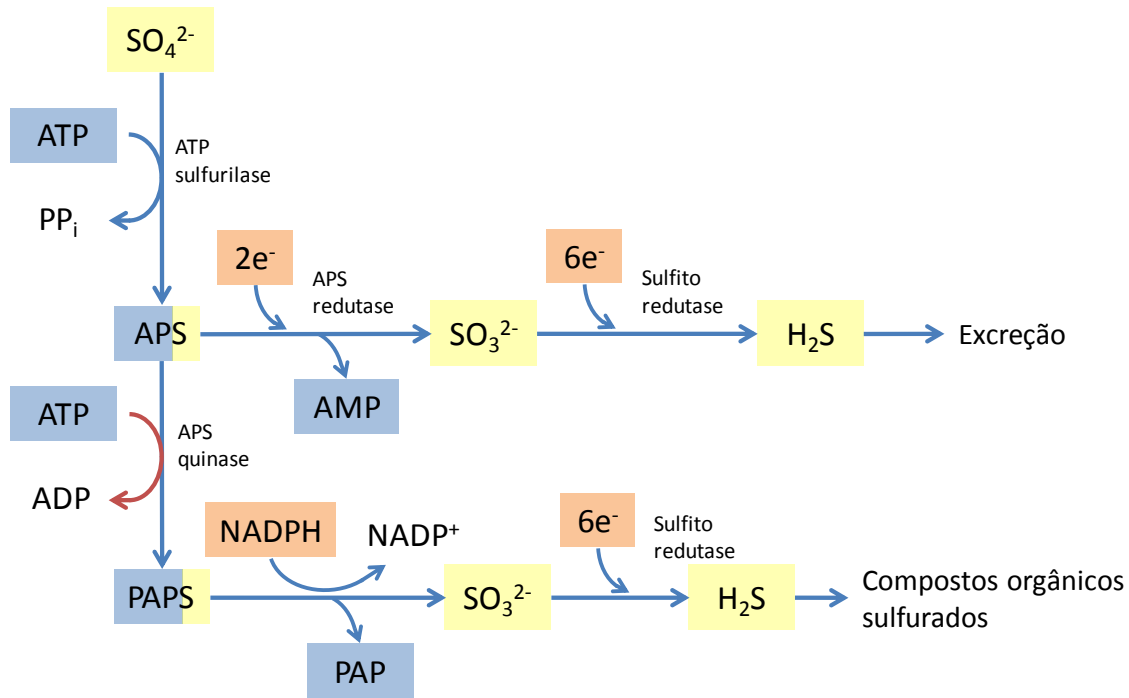


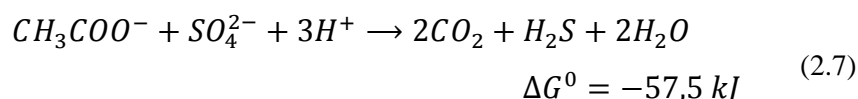
Figura 2.6. Redução biológica do sulfato por BRS (adaptado de Madigan *et al*, 2010)

O sulfato é um aceptor de elétrons desfavorável e quimicamente estável, do ponto de vista termodinâmico, não podendo ser reduzido antes de sua ativação inicial por intermédio do ATP pela enzima ATP sulfurilase. Essa enzima catalisa a ligação do íon sulfato a um fosfato do ATP, levando à formação de adenosina fosfosulfato (APS) e pirofosfato, que é hidrolisado pela pirofosfatase. Na redução dissimilativa do sulfato, o sulfato presente na APS é reduzido diretamente a sulfito (SO_3^{2-}) pela enzima APS redutase, com a liberação de AMP. (Madigan *et al*, 2010).

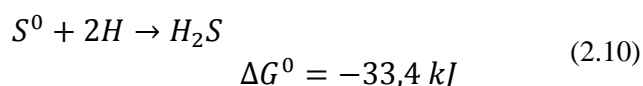
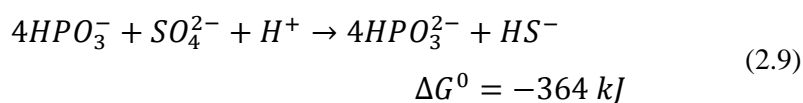
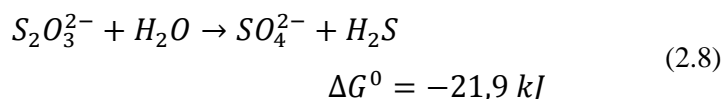
Na redução assimilativa, outro fosfato é adicionado à APS, formando a fosfoadenosina fosfosulfato (PAPS) e somente então o sulfato é reduzido. Uma vez formado o sulfito, produto de ambos os casos, a enzima sulfito redutase leva à formação de sulfeto. O H_2S formado é, então, imediatamente oxidado a enxofre orgânico, sob a forma de aminoácidos e outros compostos sulfurados orgânicos, enquanto, na redução dissimilativa de sulfato, o H_2S é excretado (Madigan *et al*, 2010).

Durante a redução dissimilativa de sulfato, ocorrem as reações de transporte de elétrons, que estabelecem uma força próton motiva, que conduz a síntese de ATP, catalisada por uma ATPase. Apesar de o sulfato ser um aceptor de elétrons muito menos favorável que o oxigênio molecular, por exemplo, é gerada energia livre suficiente para a síntese de ATP, a partir da sua redução. As taxas de crescimento das bactérias redutoras de sulfato (BRS) sugerem que há a formação de um ATP para cada SO_4^{2-} reduzido a HS^- (Madigan *et al*, 2010).

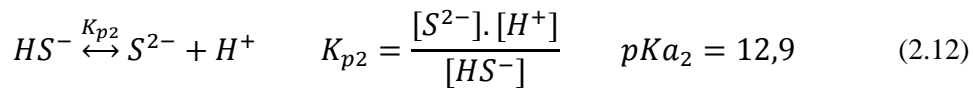
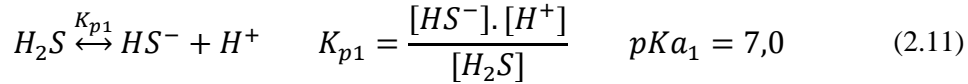
Muitas BRS podem oxidar acetato a CO_2 , a fim de obter elétrons para a redução do sulfato, conforme Equação 2.7.



O mecanismo de oxidação de acetato é composto por uma série de reações reversíveis, chamada de via acetil-CoA, que utiliza a enzima monóxido de carbono desidrogenase. Esse mecanismo é utilizado por uma grande variedade de micro-organismos anaeróbios para a síntese ou oxidação de acetato. Quando em tais condições, os organismos fazem uso dessa via para incorporar o CO_2 em compostos celulares. Conforme Madigan *et al* (2010), a sulfetogênese pode ainda ocorrer através da desproporção de compostos sulfurados, da oxidação de sulfito, ou pela redução de enxofre elementar, apresentadas nas Equações 2.8 a 2.10 respectivamente.



O sulfeto de hidrogênio (H_2S), produto final da redução do sulfato, é um gás corrosivo e venenoso, caracterizado por gerar mau odor. A forma com que o sulfeto de hidrogênio se encontra dissolvido depende fortemente do pH, variando entre as espécies H_2S , HS^- , e S^{2-} conforme apresentado nas Equações 2.11 e 2.12 apresentadas por Lewis (2010).



Conforme demonstrado por Mockaitis (2011), a especiação pode ser determinada pelo cálculo das frações molares (X), como função dos valores de pKa e de pH, conforme apresentadas nas Equações 2.13 a 2.15.

$$X_{H_2S} = \frac{1}{1 + 10^{(pH-pKa_1)}} \quad (2.13)$$

$$X_{HS^-} = \frac{1}{(1 + 10^{(pKa_1-pH)}) \cdot (1 + 10^{(pH-pKa_2)})} \quad (2.14)$$

$$X_{S_2} = \frac{1}{1 + 10^{(pKa_2-pH)}} \quad (2.15)$$

No entanto, a concentração de sulfetos totais dissolvidos (STD) é expressa em termos mássicos ($mg\ STD.L^{-1}$), sendo necessária a conversão dessas frações molares obtidas para frações mássicas (W), pela média ponderada dessas frações pela massa molecular da espécie, conforme as Equações 2.16 a 2.18.

$$S_{H_2S} = \frac{\frac{X_{H_2S}}{34}}{\frac{X_{S_2}}{64} + \frac{X_{HS^-}}{33} + \frac{X_{H_2S}}{34}} \quad (2.16)$$

$$w_{HS^-} = \frac{\frac{X_{HS^-}}{33}}{\frac{X_{S_2}}{64} + \frac{X_{HS^-}}{33} + \frac{X_{H_2S}}{34}} \quad (2.17)$$

$$w_{S_2} = \frac{\frac{X_{S_2}}{64}}{\frac{X_{S_2}}{64} + \frac{X_{HS^-}}{33} + \frac{X_{H_2S}}{34}} \quad (2.18)$$

A Figura 2.7 mostra a relação da especiação do sulfeto dissolvidas presentes em fase aquosa em termos de fração molar com o valor pH.

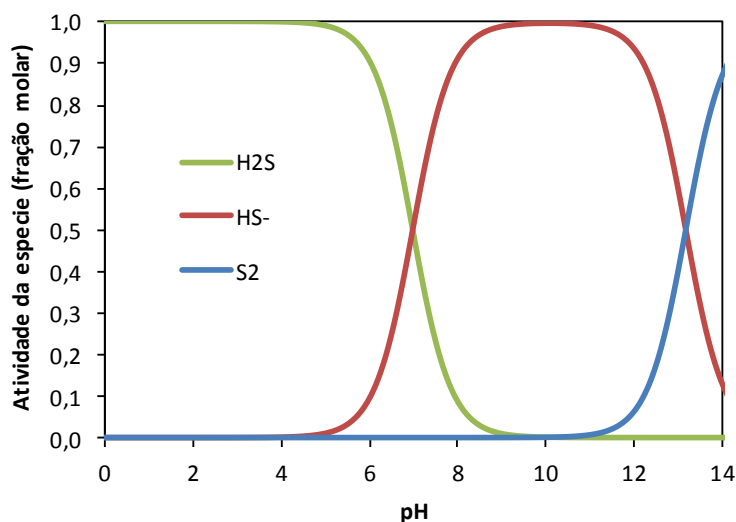


Figura 2.7. Diagrama de especiação de sulfeto de hidrogênio em função do pH na fase aquosa

Por fim, é possível determinar as concentrações de cada espécie no meio aquoso a partir da concentração de STD através da Equação 2.19 a 2.21.

$$C_{H_2S} = w_{H_2S} \cdot STD \quad (2.19)$$

$$C_{HS^-} = w_{HS^-} \cdot STD \quad (2.20)$$

$$C_{S_2} = w_{S_2} \cdot STD \quad (2.21)$$

2.6 Atividade metanogênica específica

A atividade metanogênica específica (AME) pode ser definida como a capacidade máxima de produção de metano por um consórcio de micro-organismos

anaeróbios, realizada em condições controladas de laboratório, para viabilizar a atividade bioquímica máxima de conversão de substratos orgânicos a biogás (Aquino *et al*, 2007).

Penna (1994) define o teste de AME como um ensaio em escala de bancada de laboratório, que mede a velocidade máxima de conversão de substratos específicos a metano por unidade de biomassa presente em um lodo anaeróbio submetido ao teste. Sendo a quantidade de biomassa normalmente medida pelos sólidos voláteis em suspensão da amostra.

A atividade metanogênica específica do lodo é calculada por meio da inclinação máxima da curva de produção cumulativa de metano por unidade de biomassa desse lodo (de Zeeuw, 1984), apresentada pela Equação 2.22 e representada na Figura 2.8.

$$AME^{CH_4} = \sum_{i=0}^n N_{t=n}^{CH_4} \left|_{t = \frac{d^2 N^{CH_4}}{dt^2} = 0} \right. \quad (2.22)$$

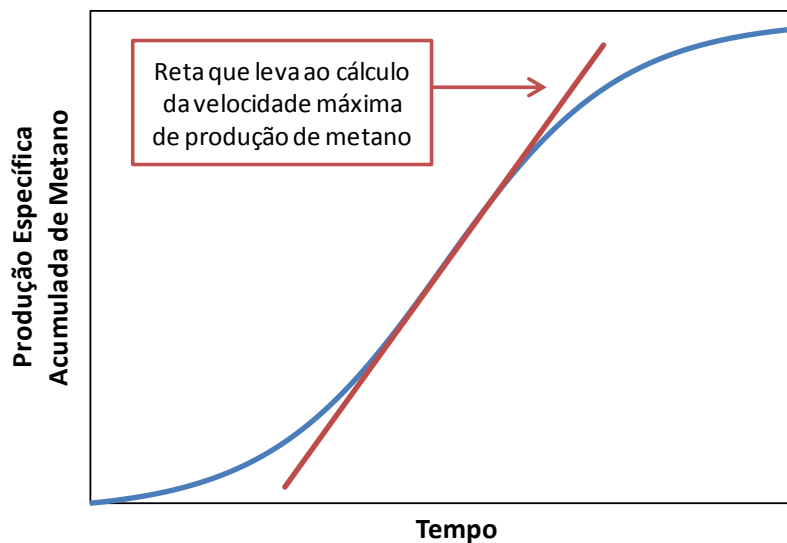


Figura 2.8. Representação da produção específica acumulada de metano (linha preta) e sua respectiva AME dada pela máxima inclinação da curva (linha vermelha)

Segundo Chernicharo *et al*, (1997), o teste de atividade microbiana pode ser utilizado como análise de rotina, para:

- avaliar a atividade metanogênica de lodos anaeróbios;
- avaliar o comportamento de biomassas sob o efeito de compostos potencialmente inibidores;
- determinar a toxicidade relativa de compostos químicos presentes em efluentes líquidos e resíduos sólidos;
- estabelecer o grau de degradabilidade de um efluente com base na atividade, já determinada de um lodo;
- monitorar as mudanças de atividade do lodo, devido a uma possível acumulação de materiais inertes, após longos períodos de operação de reator;
- determinar a carga orgânica máxima que pode ser aplicada a um determinado tipo de lodo, proporcionando uma aceleração do processo de partida de sistemas de tratamento;
- e determinar e avaliar parâmetros cinéticos.

Desta forma, a AME pode ser utilizada como um parâmetro de monitoramento da ‘eficiência’ da população metanogênica presente em um reator biológico e, como tal, constitui-se ainda em uma importante ferramenta para o controle operacional de reatores anaeróbios (Foresti *et al*, 1999).

Os trabalhos de Valcke & Verstraete (1983), de Zeeuw (1984) e Dolfing & Bloemen (1985) foram pioneiros no desenvolvimento e uso dos testes de AME, como ferramenta de caracterização e avaliação de reatores anaeróbios.

No Brasil, pesquisas sobre o teste de AME começaram a ser feitas cerca de dez anos depois, e a tese de doutorado de Penna (1994) talvez tenha sido o primeiro

trabalho brasileiro devotado ao estudo das condições de incubação e implantação do teste de AME.

Entretanto, são várias as divergências na literatura sobre quais seriam os efeitos da suplementação de nutrientes nos ensaios, sendo que vários autores utilizaram nutrientes em seus trabalhos (Valcke & Verstraete, 1983; de Zeeuw, 1984; James *et al*, 1990; Visser *et al*, 1991), enquanto outros optaram por não submeter o sistema a mais este fator (Dolfing & Bloemen, 1985; Coates, 1991² *apud* Collieran *et al*, 1991; Soto *et al*, 1991).

Outro exemplo, é em relação a temperatura. Também não há um consenso; valores de temperatura variados foram utilizados por diversos autores. Valcke & Verstraete (1983), de Zeeuw (1984), Dolfing & Bloemen (1985), Chernicharo *et al* (1997), Souza *et al* (2005) adotaram a temperatura de 30°C; enquanto Dubourguier (1989)³ *apud* Vazoller (1989) e Cohen (1991) adotaram temperaturas diversas.

Os artigos de Penna *et al* (1995) e Monteggia (1997) foram de fato as primeiras comunicações científicas nacionais que discutiram a necessidade, e propuseram uma metodologia, para a harmonização do teste de AME.

2.7 Isotermas de adsorção

A adsorção é o fenômeno em que um adsorvato, geralmente um material dissolvido, fica aderido a uma superfície de adsorção, ou o adsorvente. Esse fenômeno é comumente assumido como um equilíbrio, no qual se tem simultaneamente a

² COATES, J.D. (1991). Development, Characterisation and Stabilisation of Granular Methanogenic Sludge. Ph. D. Thesis, National University of Ireland.

³ DUBORGUIER, H.C. Biology of anaerobic bacteria proceedings International Seminar on Biology of Anaerobic Bacteria. International Seminar on Biology of Anaerobic Bacteria. Lille, France. p. 270. Amsterdam Elsevier, 1986.

adsorção e a dessorção do adsorvato (no caso íon cádmio) na superfície do adsorvente (no caso biomassa).

Segundo Benguella e Benaissa (2002) uma análise dos dados de equilíbrio é importante para desenvolvimento de uma equação que possa ser usada para comparar diferentes adsorventes em diferentes condições operacionais e para projetar e otimizar um sistema operacional.

O fenômeno de adsorção depende de uma série de fatores, como temperatura, pH, pressão, e área de adsorção, além de características do sítio adsorvente. Outros fatores podem ser considerados, conforme a metodologia de avaliação do processo, nesse trabalho foram usadas duas: a isoterma de Freundlich e a isoterma de Langmuir.

É discriminada como isoterma a curva que relaciona a quantidade de adsorvato adsorvido no adsorvente em função da concentração de equilíbrio na fase líquida a uma mesma temperatura. Diversas isotermas têm sido usadas na modelação para o equilíbrio em sistemas de biosorção. Entre essas, duas são comumente usadas e têm sido aplicadas em tais estudos, são as isotermas de Freundlich e Langmuir.

A isoterma Freundlich é uma expressão empírica baseada na sorção em superfícies heterogêneas, ou seja, sítios de adsorção não uniformes, podendo tal uniformidade ser causa de interações repulsivas entre os átomos ou moléculas adsorvidas (Freundlich e Neumann, 1909).

A isoterma de Langmuir assume algumas características às condições, são elas (a) a superfície de adsorção (o adsorvente) apresenta um número finito e idêntico de sítios que são energeticamente uniformes; (b) não há interações entre as espécies adsorvidas, significando que a quantidade adsorvida não tem influência na velocidade

de adsorção; (c) uma monocamada é formada quando a superfície sólida chega a sua saturação (Langmuir, 1916).

2.8 *Considerações finais*

Considerando a possibilidade de aplicação de métodos biológicos de remoção de cádmio de águas residuárias, seja através do mecanismo de adsorção na biomassa ou pela bioprecipitação de sulfeto de cádmio, é proposta a avaliação das atividades metanogênica e sulfetogênica na remoção de cádmio tendo o acetato como principal fonte de carbono. Com foco em avaliar toxicidade causada pela presença cádmio, os mecanismos de remoção do cádmio, e também, avaliar o benefício de se propiciar a ocorrência concomitante de ambas para redução do efeito tóxicos do cádmio na comunidade microbiana pela indisponibilização do cádmio através da bioprecipitação.

Nesse trabalho a AME será aplicada para avaliação da atividade metanogênica e, similarmente, da atividade sulfetogênica, as quais podem ser negativamente afetadas pela presença de inibidores.

É importante ressaltar que a não adaptação do inóculo pode representar uma limitação da metodologia aplicada, possivelmente reduzindo o campo de comparação com outros trabalhos. Entretanto pode ser considerado válido como primeira avaliação do proposto.

3 OBJETIVOS E HIPÓTESES

“A deficiência está na cabeça das pessoas.”

Gonçalo Borges

Esse trabalho tem por objetivo avaliar a toxicidade do metal pesado cádmio, em diferentes concentrações (5, 10, 25, 100 mg $\text{Cd}^{2+} \cdot \text{L}^{-1}$), por contaminação aguda na atividade anaeróbia em duas condições: (a) na ocorrência de atividade metanogênica e (b) na ocorrência de atividade metanogênica concomitante a atividade sulfetogênica, de modo a propiciar a remoção biológica do metal pesado cádmio através da adsorção ou bioprecipitação de águas residuárias.

Assim, a toxicidade causada pelo cádmio e os mecanismos biológicos de remoção do cádmio serão avaliados. Além disso, esse trabalho tem por objetivo avaliar se há alguma interação benéfica da atividade sulfetogênica concomitante a metanogênica por vias a reduzir os efeitos tóxicos do cádmio aos micro-organismos.

Desse modo são discriminadas algumas hipóteses, teses e protocolos experimentais para avaliar as hipóteses levantadas, conforme apresentadas pelas Figuras 3.1 e 3.2.

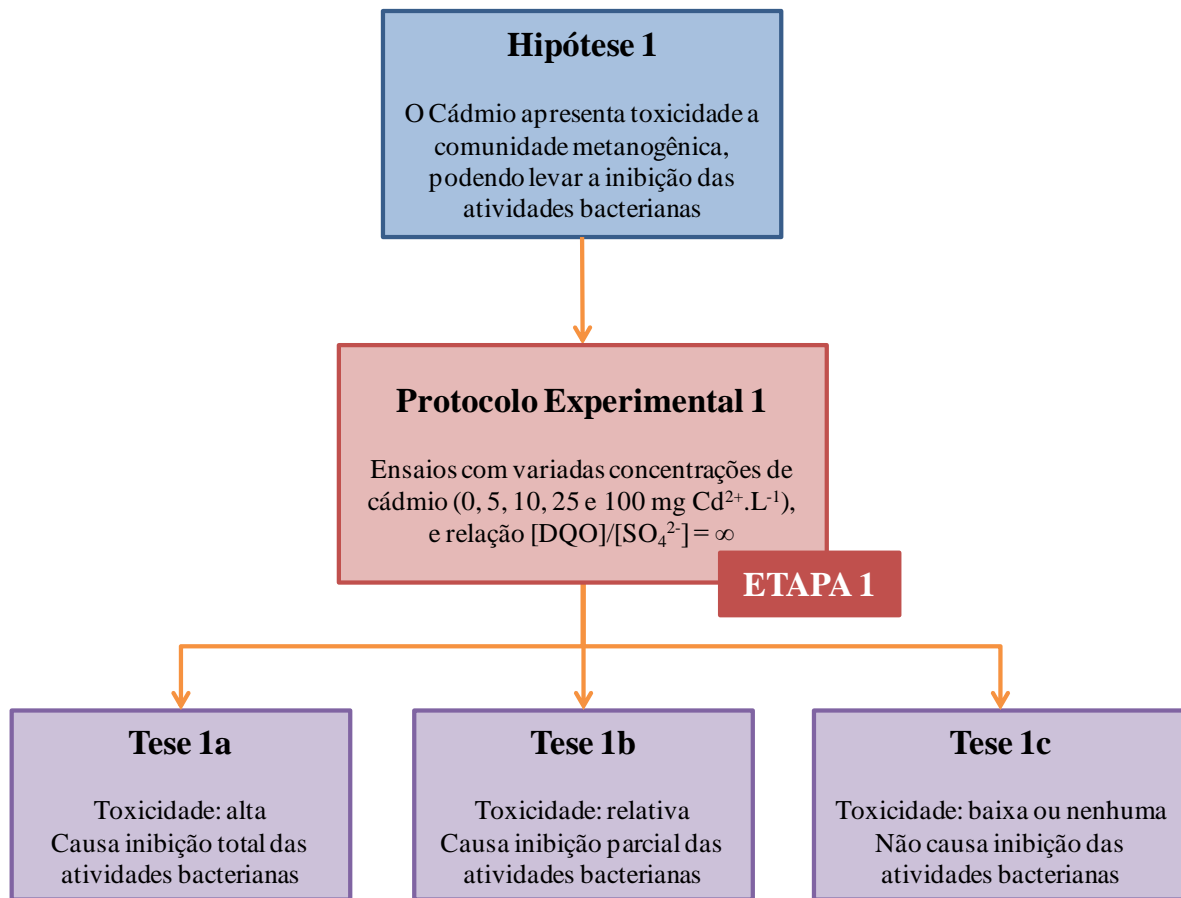


Figura 3.1. Diagrama para a hipótese 1

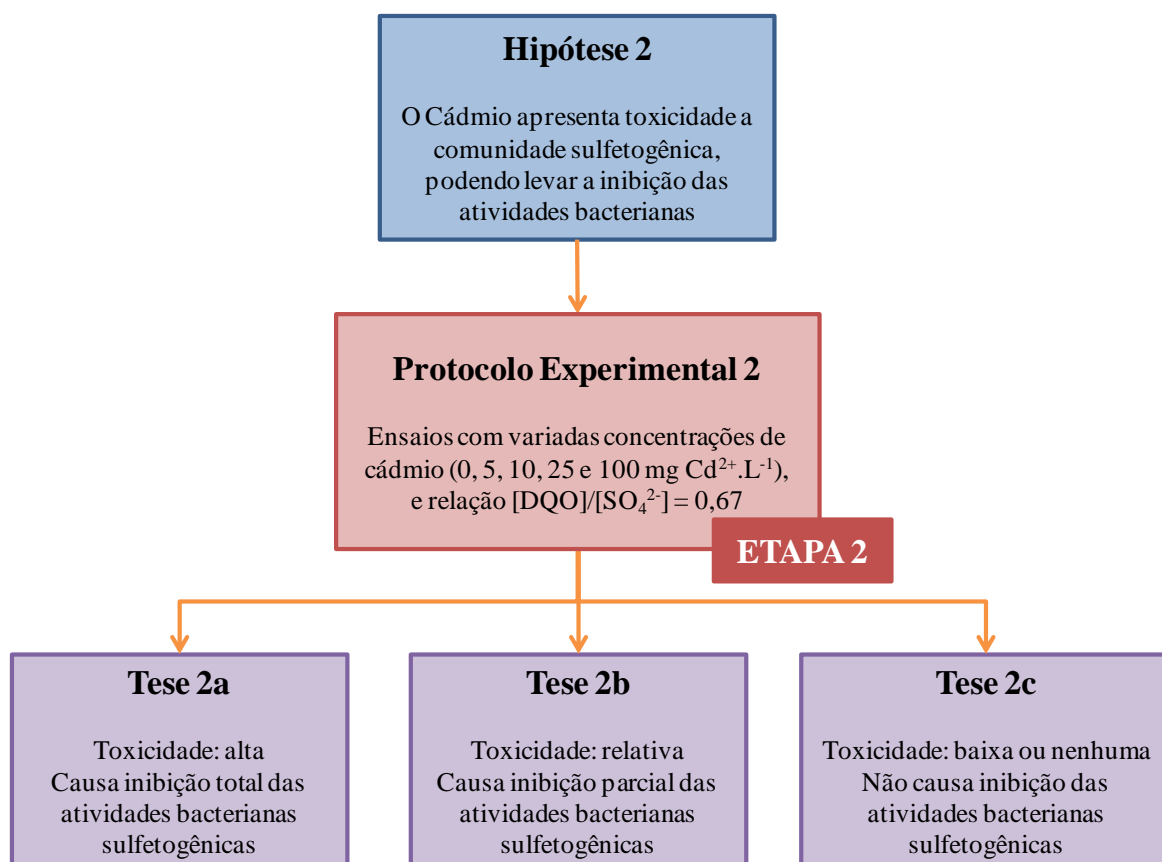


Figura 3.2. Diagrama para a hipótese 2

4 MATERIAIS E MÉTODOS

“Não tente, faça acontecer! Pois apenas tentar já induz a falha.”

Alcyr Barbin Neto

Nesse capítulo, são descritos detalhadamente os materiais utilizados na execução do projeto, o planejamento e o procedimento experimentais, e os métodos analíticos utilizados para tratamento dos dados e obtenção de parâmetros comparativos a partir dos valores medidos.

4.1 Planejamento experimental

O planejamento experimental foi realizado a fim de avaliar a atividade da biomassa sujeita a contaminação aguda por cádmio em diferentes concentrações, em duas etapas distintas, conforme os protocolos experimentais apresentados.

Na primeira etapa, chamada de ETAPA A, queria-se avaliar a atividade anaeróbia metanogênica unicamente, e, na ETAPA B, a atividade anaeróbia metanogênica concomitantemente a atividade anaeróbia sulfetogênica. A Tabela 4.1 resume as condições de cada etapa e cada condição.

Tabela 4.1 – Planejamento experimental

	$[DQO]/[SO_4^{2-}]$	Concentração de cádmio ($\text{mg Cd}^{2+} \cdot \text{L}^{-1}$)				
		0	5	10	25	100
ETAPA A	$\rightarrow \infty^*$	A1	A2	A3	A4	A5
ETAPA B	0,67	B1	-**	B3	B4	B5

* Relação tende ao infinito, estando próxima a 16.377,26.

** Na segunda etapa optou-se por não realizar a condição com concentração de $5 \text{ mg Cd}^{2+} \cdot \text{L}^{-1}$, devido à similaridade dos resultados obtidos nas condições de 0 a $10 \text{ mg Cd}^{2+} \cdot \text{L}^{-1}$ da ETAPA A.

Escolheu-se pela contaminação aguda, pois na aplicação de uma carga de choque não há tempo de aclimatização dos micro-organismos, o que pode ocorrer em

caso de um acidente. A aclimatização seria possível caso a concentração de inibidor fosse aumentada gradualmente.

4.2 *Inoculo*

O inoculo foi obtido de lodo granular de um reator UASB de tratamento de águas residuárias de um abatedouro de aves (Avícola Dacar Industrial S.A., Tietê – SP). Em todos as condições a concentração de biomassa (C^X) foi escolhida como 10 g SVT.L⁻¹. As características, em termos de sólidos, do lodo são mostradas na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 – Características do lodo

Característica	Unidade	Valor
SVT	g SVT/g Lodo	0,06297
ST	g ST/g Lodo	0,07044
SFT	g SFT/g Lodo	0,00747

4.3 *Meio sintético*

Para a determinação dos efeitos do cádmio na inibição de comunidades metanogênicas acetoclásticas foi utilizada unicamente como fonte de carbono o acetato de sódio, considerando concentração de matéria orgânica de 1.280 mg O₂.L⁻¹ em termos de DQO, ou seja, 2.279 mg H₃CCOONa.L⁻¹. Além disso, na composição do meio sintético, foram utilizadas duas soluções, uma solução de nutrientes e uma solução traço de metais, as composições de ambas são mostradas nas Tabelas 4.3 e 4.4, respectivamente.

Tabela 4.3 – Composição da solução de nutrientes

Composto	Condições	Condições
	A1, A2, A3 e A4	A5, B1, B3, B4, e B5
(NH ₄) ₂ SO ₄	95,5 mg.L ⁻¹	98,0 mg.L ⁻¹
NH ₄ Cl	51,8 mg.L ⁻¹	55,9 mg.L ⁻¹
KH ₂ PO ₄	95,9 mg.L ⁻¹	98,6 mg.L ⁻¹

Tabela 4.4 – Composição da solução traço de metais para todos as condições

Composto	Concentração	Composto	Concentração
H ₃ CCOONa	2.279 mg.L ⁻¹	NiCl ₂ .6H ₂ O	57,228 mg.L ⁻¹
FeCl ₂ .4H ₂ O	2.008,885 mg.L ⁻¹	CoCl ₃ .6H ₂ O	2.000,9 mg.L ⁻¹
ZnCl ₂	58,928 mg.L ⁻¹	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	54,114 mg.L ⁻¹
MnCl ₂ .4H ₂ O	500,8 mg.L ⁻¹	H ₃ PO ₄	1 mL. L ⁻¹
CuCl ₂ .2H ₂ O	31,457 mg.L ⁻¹	HCl	1 mL. L ⁻¹

A solução de nutrientes foi utilizada em dissolução 1:7 e a solução traço de metais 1:700 em relação ao meio sintético.

Na ETAPA B foi, também, adicionada uma concentração de sulfato de sódio de 2.820 mg Na₂SO₄.L⁻¹ afim de obter a relação $[DQO]/[SO_4^{2-}] = 0,67$. Com essa relação há, teoricamente, sulfato disponível suficiente para remover por completo a matéria orgânica via redução de sulfato em termos estequiométricos.

4.4 Procedimento experimental

As condições experimentais foram conduzidas em frascos Duran® com 1.143 mL de capacidade total (700 mL como meio reacional) como reatores em batelada única. O meio sintético foi adicionado, em seguida o inoculo e a dosagem de cádmio, a anaerobiose foi mantida pela substituição de todo o ar atmosférico presente no *headspace* dos frascos através de borbulhamento de nitrogênio nos frascos durante 5 minutos previamente ao início das condições, por fim os frascos foram fechados, e os ensaios tiveram início. Os ensaios tiveram duração de 60 horas e foram realizados em incubadora de agitação rotatória tipo *shaker* sob temperatura de 30°C a 170 rpm.

A metodologia de amostragem se deu na seguinte ordem cronológica:

- i. medida da pressão interna no reator;
- ii. retirada de amostra gasosa (250 μL);
- iii. retirada de amostra líquida (3 mL); e
- iv. aliviada a pressão interna até a pressão ambiente.

Esse procedimento foi adotado de modo a não se retirar um volume total de amostras superior a 10% do volume do meio reacional total. Além disso, o alívio da pressão interna foi realizado de modo a manter dentro do limite de medição do barômetro utilizado.

4.5 *Análises cromatográficas e físico-químicas*

As análises de concentração da matéria orgânica (em termos de DQO) e de sólidos foram realizadas conforme procedimentos estabelecidos por APHA (2005), COD-5220 e Solids-2540 respectivamente. A DQO foi determinada para amostras filtradas (dissolvidas) à membrana de 0,45 μm . O pH foi determinado utilizando medições potenciométricas (eletrodo de vidro padrão, Digimed Inc., Brasil).

As análises de cádmio foram realizadas por espectrofotometria atômica de adsorção, como descrito por APHA (2005). Foi utilizado o espectrofotômetro Varian© AA240FS com as vazões de operação: 6,8 mL.min⁻¹ (aspiração), 13,5 L.min⁻¹ (ar) e 2,0 L.min⁻¹ (acetileno). A fonte de luz foi uma lâmpada de cádmio com cátodo oco à corrente de 4 mA (lâmpada Varian código 5610100800) operada à comprimento de onda de 228,8 nm e passando através de uma fenda de 0,5 mm. As concentrações de cádmio livre foram medidas por filtragem de uma amostra bruta através de uma membrana de acetato de celulose hidrofílica de 0,22 μm .

A composição do biogás (CH_4 , CO_2 , N_2 e H_2) foi aferida por cromatografia gasosa (Shimadzu® GC 2010) com uma coluna capilar Carboxen® 1010 (30 m x 0,53 mm x 0,30 μm) e um detector de condutividade termal, usando argônio como eluente e ar comprimido sintético como make-up em 12 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. As temperaturas do injetor e do detector eram 200 e 230°C respectivamente. O forno utilizou temperatura programa de rampa inicial igual a 40°C (2 minutos). A temperatura foi aumentada até 60°C com uma taxa de 5°C. min^{-1} , e, em seguida, aquecida a 95°C com uma taxa de 25°C. min^{-1} , enquanto que esta temperatura foi mantida até que as extremidades de execução (5 minutos). O volume injetado de biogás foi 100 μL . A concentração de gás sulfídrico H_2S na fase gasosa foi estimada pela lei de Henry a partir do STD. O STD foi analisado conforme APHA (2005).

Os ácidos orgânicos voláteis foram determinados por cromatografia líquida por HPLC Shimadzu® modular usando um sistema de bombeamento (LC-10AD), forno (CTO-20A), controlador (SCL-10A) e um foto detector de matriz de díodos (PDA) ajustado para ler comprimentos de onda que variam de 190 a 370 nm (UV) com passo de 1 nm. Um cromatograma mostrou leituras registradas no comprimento de onda de 205 nm. Uma coluna Bio-Rad Aminex® HPX-87H 3000 x 7,8 mm foi operada a temperatura constante de 55°C. O eluente foi composto por H_2SO_4 a concentração de 0,005 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ a uma taxa de fluxo de 0,8 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, e o volume de amostra injetado foi de 100 μL . As amostras foram analisadas para a determinação da concentração dos seguintes ácidos: cítrico, málico, láctico, fórmico, succínico, acético, propiônico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico e capróico. A identificação dos picos e integração foi realizada pelo software Shimadzu Class-VP® versão 5.032. As concentrações foram expressas em termos de DQO ($\text{mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$) e normalizadas pela concentração de matéria orgânica dissolvida, assumindo que somente tais ácidos

compusessem toda a matéria orgânica efluente. A Tabela 4.5 resume as análises físico-químicas realizadas.

Tabela 4.5 – Análises físico-químicas realizadas

Parâmetros	Unidade	Método	Referência
pH	-	Potenciometria	APHA (2005)
DQO Filtrada	mg.L ⁻¹	Espectrofotometria	APHA (2005)
Sulfato	mg.L ⁻¹	Espectrofotometria	APHA (2005)
Sulfeto Total Dissolvido	mg.L ⁻¹	Espectrofotometria	APHA (2005)
Ácidos Voláteis Totais	mg.L ⁻¹	Cromatografia – HPLC	APHA (2005)
Cádmio	mg.L ⁻¹	Espectrofotometria de Absorção Atômica	APHA (2005)
Pressão Relativa	mbar	Barometria	-
Gases (CH ₄ , CO ₂ , N ₂ e H ₂)	mmol.L ⁻¹	Cromatografia – Gow Mac	APHA (2005)

4.6 Isotermas de adsorção

Com finalidade de verificar a efetiva concentração de cádmio na qual a biomassa estava submetida C_X^{Cd} ($mg\ Cd^{2+}.g\ SVT^{-1}$) foi avaliado o efeito da adsorção do íon cádmio livre na biomassa para definir os parâmetros das isotermas de adsorção utilizando a biomassa como adsorvente.

A Equação 4.1 mostra o modelo de adsorção da isoterma de Freundlich (Freundlich e Neumann, 1909).

$$q_e = \frac{C_0^{Cd} - C_e^{Cd}}{C^X} = K_F \cdot C_e^{Cd \frac{1}{N}} \quad (4.1)$$

Na qual q_e é a quantidade de metal adsorvida ou removida pela quantidade de adsorvente ($mg\ Cd^{2+}.g\ SVT^{-1}$), C_0^{Cd} é a concentração inicial de cádmio livre ($mg\ Cd^{2+}.L^{-1}$), C_e^{Cd} é a concentração de equilíbrio de cádmio livre ($mg\ Cd^{2+}.L^{-1}$), C^X é a concentração de adsorvente ($g\ SVT.L^{-1}$), K_F a capacidade de adsorção ($L.g\ SVT^{-1}$), e N a intensidade de adsorção, ambas constantes características do sistema.

A Equação 4.2 mostra o modelo de adsorção da isoterma de Langmuir (Langmuir, 1916).

$$q_e = \frac{C_0^{Cd} - C_e^{Cd}}{C^X} = Q_0 \cdot \frac{K_L \cdot C_e}{1 + K_L \cdot C_e} \quad (4.2)$$

Na qual q_e é a quantidade de metal adsorvida ou removida pela quantidade de adsorvente ($mg\ Cd^{2+} \cdot g\ SVT^{-1}$), C_0^{Cd} é a concentração inicial de cádmio livre ($mg\ Cd^{2+} \cdot L^{-1}$), C_e^{Cd} é a concentração de equilíbrio de cádmio livre ($mg\ Cd^{2+} \cdot L^{-1}$), C^X é a concentração de adsorvente ($g\ SVT \cdot L^{-1}$), K_L a constante de equilíbrio de adsorção relacionada a afinidade dos íons de cádmio pelo sítio ($L \cdot mg\ Cd^{2+} \cdot g^{-1}$), e Q_0 é o máximo de quantidade de íon cádmio por unidade de massa de biomassa para formar a monocamada completa na superfície ($mg\ Cd^{2+} \cdot g\ SVT^{-1}$).

4.7 Cinética de degradação

Considerando o modelo cinético de Monod (Equação 4.3), foi utilizado o modelo cinético de Monod modificado para baixas concentrações de substrato (primeira ordem residual, adaptado de Levenspiel, 1998), apresentado pela Equação 4.4, para a determinação do efeito do cádmio na cinética de remoção de matéria orgânica e acetato de sódio, na forma de ácido acético pela biomassa anaeróbia.

$$r_S = r_{max} \cdot \frac{S - S_R}{k_m + (S - S_R)} \quad (4.3)$$

$$S = S_R + (S_0 - S_R) \cdot e^{-k_1^{app} \cdot (t - t_0)} \quad (4.4)$$

Nas quais, r_S é a velocidade de reação ($mg\ O_2 \cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$), r_{max} é uma constante cinética, comumente interpretada como a velocidade máxima de reação ($mg\ O_2 \cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$), k_m é a constante cinética de Monod ($mg\ O_2 \cdot L^{-1}$), S é a

concentração de substrato ($mg\ O_2.L^{-1}$), S_0 é a concentração inicial de substrato ($mg\ O_2.L^{-1}$), S_R é a concentração residual de substrato ($mg\ O_2.L^{-1}$), k_1^{app} é a constante cinética aparente (h^{-1}), t é o tempo (h), e t_0 é o tempo em que o processo de degradação tem início (h).

A Equação 4.5 relaciona o modelo cinético de Monod com o modelo de primeira ordem residual, o limite $(k_m + S) \rightarrow k_m$ só pode ser considerado verdadeiro quando o valor de k_m é muito maior que S , que é uma característica de sistemas com baixas concentrações de substrato.

$$k_1^{app} = \lim_{(k_m + S) \rightarrow k_m} \frac{C_X \cdot \mu_{max}}{Y_{X/S} \cdot (k_m + S)} \Bigg|_{\frac{X \cdot \mu_{max}}{Y_{X/S}} = r_{max}} \quad (4.5)$$

Na qual, k_1^{app} é a constante cinética aparente (h^{-1}), C_X é a concentração de micro-organismos ($g\ SVT.L^{-1}$), μ_{max} é a velocidade de crescimento máximo específico de micro-organismos (h^{-1}), $Y_{X/S}$ é o fator de crescimento ou a produção bruta de bactérias por unidade de massa de substrato ($g\ SVT.mg\ O_2^{-1}$), k_m é a constante cinética de Monod ($mg\ O_2.L^{-1}$), S é a concentração de substrato ($mg\ O_2.L^{-1}$), r_{max} é uma constante cinética ($mg\ O_2.L^{-1}.h^{-1}$).

4.8 Sulfeto de hidrogênio em fase gasosa

A concentração molar de sulfeto de hidrogênio em fase gasosa pode ser estimada pela determinação da pressão parcial desse gás no *headspace* considerando a concentração de sulfeto total dissolvido (STD) em fase aquosa, o diagrama de especiação de sulfeto de hidrogênio em função do pH, e lei de Henry (Equação 4.6).

$$p_i^{H_2S(g)} = k_{CNTP}^{Henry} \cdot C_i^{H_2S(aq)} \quad (4.6)$$

Na qual, $p_i^{H_2S(g)}$ é a pressão parcial do H_2S em um dado tempo (*bar*), k_{CNTP}^{Henry} é a constante de Henry em condições normais de temperatura e pressão (CNTP) ($10,1325 \text{ mbar} \cdot L \cdot mmol^{-1}$, conforme Sander, 1999), e $C_i^{H_2S(aq)}$ é a concentração de H_2S na fase aquosa em um dado tempo ($mmol \cdot L^{-1}$).

A equação de Clapeyron (Equação 4.7), também conhecida como equação dos gases ideais, foi utilizada para determinar a concentração molar de sulfeto de hidrogênio gasoso no *headspace*.

$$M_{CNTP}^{H_2S(g)} = \frac{p_i^{H_2S(g)}}{R \cdot T_{CNTP}} \quad (4.7)$$

Na qual, $M_{CNTP}^{H_2S(g)}$ é a concentração molar de H_2S em fase gasosa nas CNTP em um dado tempo ($mmol \cdot L^{-1}$), $p_i^{H_2S(g)}$ é a pressão parcial do H_2S em um dado tempo em um dado tempo (*mbar*), R é a constante dos gases ideais ($8,099 \times 10^{-2} \text{ L} \cdot \text{mbar} \cdot mmol^{-1} \cdot K^{-1}$), e T_{CNTP} é a temperatura nas CNTP (273,15 K).

4.9 Metano em fase gasosa

A concentração molar de metano foi corrigida para as CNTP através da equação geral dos gases provinda da equação de Clapeyron, representada pela Equação 4.8.

$$M_{CNTP}^{CH_4(g)} = M_i^{CH_4(g)} \cdot \frac{T}{P_i} \cdot \frac{P_{CNTP}}{T_{CNTP}} \quad (4.8)$$

Na qual, $M_{CNTP}^{CH_4(g)}$ é a concentração molar de metano nas CNTP num dado tempo ($mmol \cdot L^{-1}$), $M_i^{CH_4(g)}$ é a concentração molar de metano num dado tempo, T é a temperatura experimental (K), P_i é a pressão experimental num dado tempo

(*mbar*), P_{CNTP} é a pressão nas CNTP (*mbar*), e T_{CNTP} é a temperatura nas CNTP (*K*).

4.10 Produção molar específica de gases

A produção molar específica, por concentração de micro-organismos, para o gás metano e o gás sulfeto de hidrogênio podem ser determinados a partir da Equação 4.9, mostrada a seguir.

$$N_{t=n}^j = \sum_{i=0}^n \frac{M_i^j \cdot V_i^{CNTP}}{X} \quad (4.9)$$

Na qual, $N_{t=n}^j$ é a produção molar específica acumulada para CH₄ ou H₂S (*mmol.L.g SVT⁻¹*), $M_{CNTP_i}^j$ é a concentração molar para CH₄ ou H₂S nas CNTP num dado tempo (*mmol.L⁻¹*), V_i^{CNTP} é o volume do *headspace* nas CNTP num dado tempo (*L*), e C_X é a concentração de micro-organismos (*g SVT*).

4.11 Atividade metanogênica e sulfetogênica específica

A atividade metanogênica específica (AME) e atividade sulfetogênica específica (ASE) são representadas pela máxima velocidade de produção de metano e sulfeto de hidrogênio, respectivamente. Dessa forma, a AME pode ser determinada pela derivada primeira da produção, através da Equação 4.10, e o tempo em que essa ocorre pela Equação 4.11.

$$AME^{CH_4} = \left. \frac{dN^{CH_4}}{dt} \right|_{t=t_{AME}} \quad (4.10)$$

$$t_{AME}^{CH_4} = t \left|_{\frac{d^2 N^{CH_4}}{dt^2} = 0} \right. \quad (4.11)$$

Nas quais, AME^{CH_4} é a AME para CH_4 , no tempo de AME ($mmol CH_4.L.g SVT^{-1}.h^{-1}$), N^{CH_4} é a produção molar específica acumulada para CH_4 ($mmol CH_4.L.g SVT^{-1}$), $t_{AME}^{CH_4}$ é o tempo em que a AME ocorre para CH_4 (h), t é o tempo (h).

Similarmente, a ASE pode ser representada pelas Equações 4.12 e 4.13.

$$ASE^{H_2S} = \left. \frac{dN^{H_2S}}{dt} \right|_{t=t_{ASE}} \quad (4.12)$$

$$t_{ASE}^{H_2S} = t \Big|_{\frac{d^2 N^{H_2S}}{dt^2} = 0} \quad (4.13)$$

Nas quais, ASE^{H_2S} é a ASE para H_2S , no tempo de ASE ($mmol H_2S.L.g SVT^{-1}.h^{-1}$), N^{H_2S} é a produção molar específica acumulada para H_2S ($mmol H_2S.L.g SVT^{-1}$), $t_{ASE}^{H_2S}$ é o tempo em que a ASE ocorre para H_2S (h), t é o tempo (h).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

*“Filho, não tenha medo. Faça certo, faça errado... faça!
Se for o certo, ótimo! Caso contrário, você vai ter que corrigir o seu erro.
Tudo bem, é algo que pode ser feito!
Mas, nunca se deixe arrepender por não ter feito!”*

Sérgio Toledo Martins

Nesse capítulo, são apresentados os resultados obtidos dos ensaios experimentais, conforme as condições descritas anteriormente com embasamento na coletânea bibliográfica. Também é realizada a análise e discussão dos resultados obtidos, fazendo uso dos métodos analíticos descritos.

A apresentação dos resultados e as discussões são feitos em quatro seções distintas. Primeiramente são apresentados os resultados referentes a atividade do cádmio e o fenômeno de adsorção na biomassa para ambas as etapas.

Nas seguintes seções são apresentados resultados e discussões referentes a ETAPA A, a seguir a ETAPA B, e por último é feita a análise de ambas as etapas, priorizando avaliar as possíveis diferenças entre elas.

Além da atividade do cádmio e o fenômeno de adsorção na biomassa, são apresentados resultados referentes ao pH, o consumo do substrato nos ensaios e o ajuste ao modelo cinético, o aparecimento de ácidos orgânicos voláteis intermediários (AVTs), a produção de metano e sulfeto através da atividade metanogênica específica, aplicada em ambas as etapas.

Por fim, na última seção, são feitas considerações finais, onde as duas etapas são comparadas, é inferida uma relação entre a concentração de cádmio na biomassa e as atividades metabólicas presentes, e, também, efeito do sulfato na remoção de cádmio é avaliado.

5.1 Atividade dos íons Cd^{2+} e ajuste às isotermas

Os íons Cd^{2+} livre foram rapidamente removidos da suspensão, sendo observado o estabelecimento da concentração de equilíbrio em menos de 30 min para os ensaios A1, A2, A3, e A4, em menos de 2,5 h para o ensaio A5 e em menos de 1,5 h para os ensaios B1, B3, B4 e B5. As concentrações de Cd^{2+} livre após estabelecido o equilíbrio são apresentadas na Figura 5.1 em formato de *box plot*.

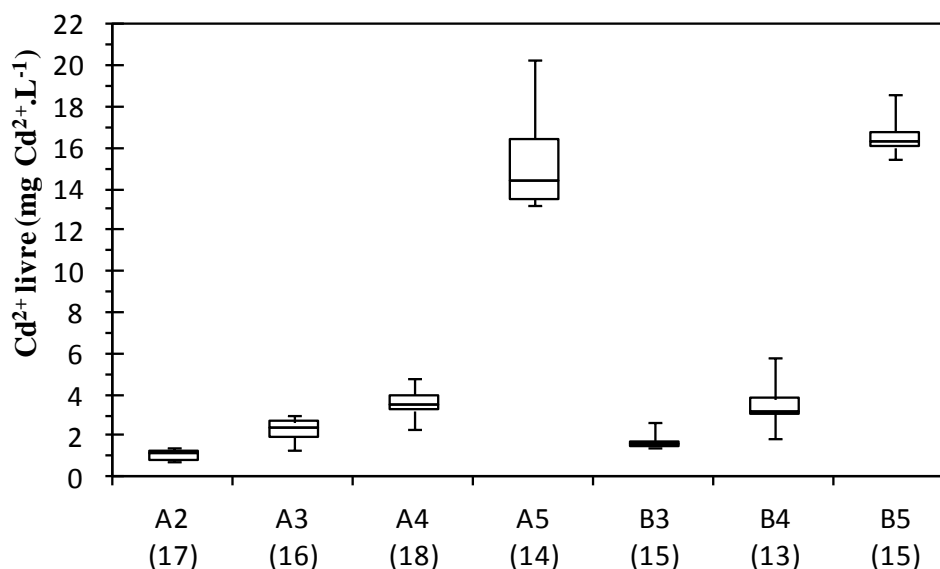


Figura 5.1. Concentrações de Cd^{2+} livre após estabelecido o equilíbrio

O ajuste às isotermas foi realizado para as ETAPA A e B através do software Origin® 6.1 (Origin Lab Corporation), utilizando o algoritmo de Levenberg-Marquadt através da ferramenta 'Non-linear Curve Fit'.

O ajuste à isoterma de Langmuir para a ETAPA A e B não apresentou convergência a resultados desejáveis (valores de R^2 menores que 0,5000).

O ajuste à isoterma de Freundlich para a ETAPA A e B apresentou bons resultados. A Tabela 5.1 resume os resultados dos ajustes, a Figura 5.2 mostra os ajustes realizados às isotermas de Freundlich.

Tabela 5.1 – Resultados dos ajustes à isoterma de Freundlich

	Unidade	ETAPA A	ETAPA B
K_F	g SVT^{-1}	$0,8721 \pm 0,1037$	$0,9303 \pm 0,0840$
N	-	$1,0520 \pm 0,0503$	$1,1009 \pm 0,0405$
R^2	-	0,9375	0,9816

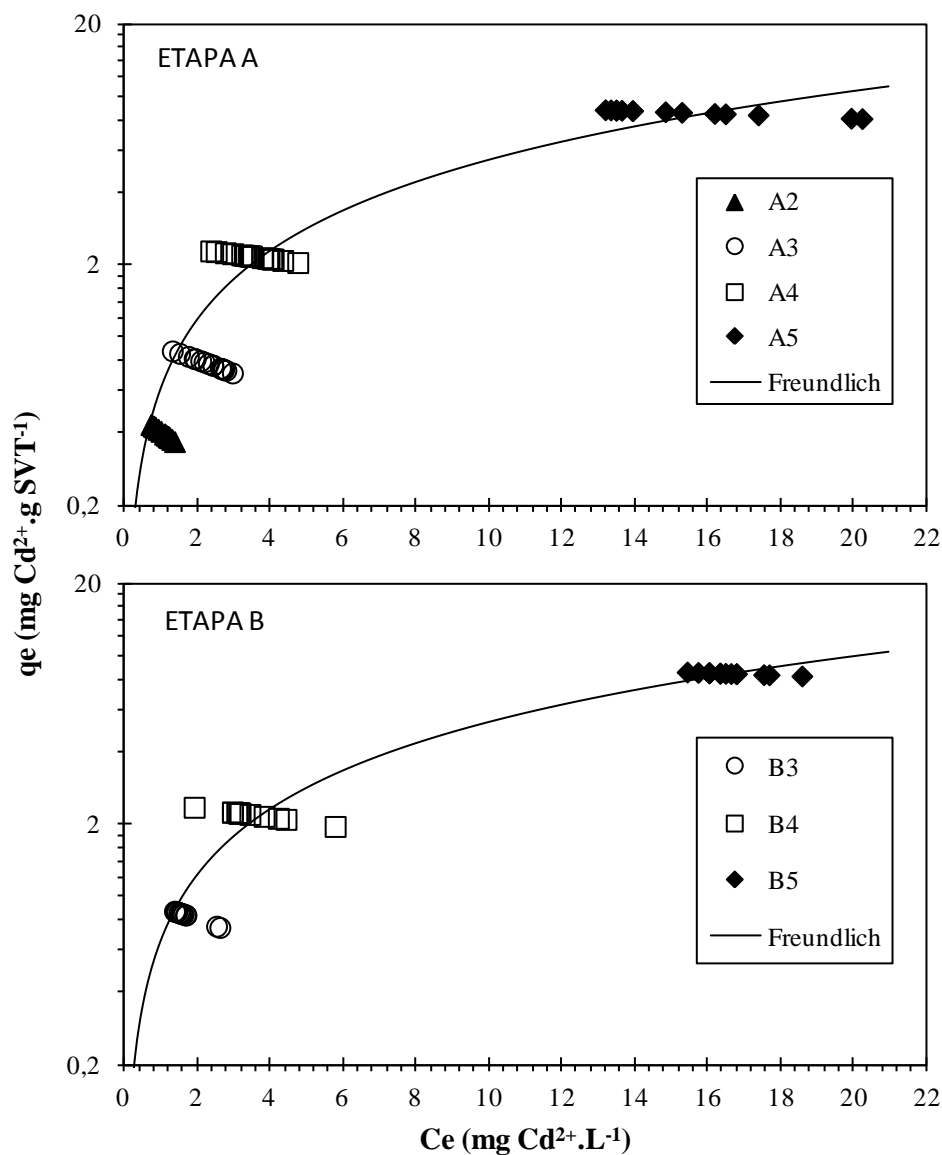


Figura 5.2. Ajustes à isoterma de Freundlich para a ETAPA A e B

Apesar de na ETAPA B ser possível a ocorrência dos fenômenos de adsorção e bioprecipitação concomitantemente, pode-se inferir que o fenômeno de bioprecipitação não ocorreu ou foi pouco significativo para o processo de remoção dos íons cádmio, devido a similaridade dos resultados dos ajustes à isoterma de Freundlich

em ambas as etapas, isso pode ocorrer devido a rapidez com que o fenômeno de adsorção ocorre, conforme o observado principalmente na ETAPA A.

Portanto o fenômeno de adsorção é representativo e responsável pela remoção de quase a totalidade dos íons cádmio, estando a biomassa da ETAPA B sujeita a condições de contaminação similares a biomassa da ETAPA A.

A partir dos ajustes realizados, é possível determinar quais concentrações médias de cádmio a biomassa encontrava-se realmente submetida. A Tabela 5.2 resume a concentração de biomassa aplicada (C^X), a efetiva concentração inicial de cádmio (C_0^{Cd}) a qual a biomassa estava submetida, a concentração média de cádmio após estabelecimento do equilíbrio ($C_{eq\ média}^{Cd}$) e o seu desvio padrão, e a concentração de cádmio adsorvido na biomassa (C_X^{Cd}).

Tabela 5.2 – Concentrações de cádmio para cada condição experimental

Condição Experimental		C^X <i>g SVT.L⁻¹</i>	C_0^{Cd} <i>mg Cd²⁺.L⁻¹</i>	$C_{eq\ média}^{Cd}$ <i>mg Cd²⁺.L⁻¹</i>	C_X^{Cd} <i>mg Cd²⁺.g SVT⁻¹</i>
ETAPA A	A1	9,92	0	0	0
	A2	9,91	7,30	1,04	0,90
	A3	9,98	13,93	2,02	1,70
	A4	9,99	23,67	3,52	2,88
	A5	9,93	96,92	15,39	11,73
ETAPA B	B1	9,94	0	0	0
	B3	9,99	10,97	1,58	1,35
	B4	9,89	22,37	3,32	2,73
	B5	9,94	98,20	15,65	11,92

5.2 Etapa metanogênica (ETAPA A)

pH

O pH permaneceu próximo a neutralidade não apresentando variações significativas, os valores aferidos nos ensaios A1, A2, A3, A4 e A5 foram $7,69 \pm 0,18$

(17); $7,74 \pm 0,10$ (17); $7,73 \pm 0,09$ (17); $7,66 \pm 0,13$ (17); e $7,26 \pm 0,27$ (14) respectivamente. Provavelmente esta variável não sofreu influência da variação da concentração de cádmio no espectro de concentrações avaliado. A Figura 5.3 resume os valores de pH observados em formato *box plot*. A variação do pH em função do tempo nas condições experimentais dessa etapa podem ser observadas na Figura 5.4.

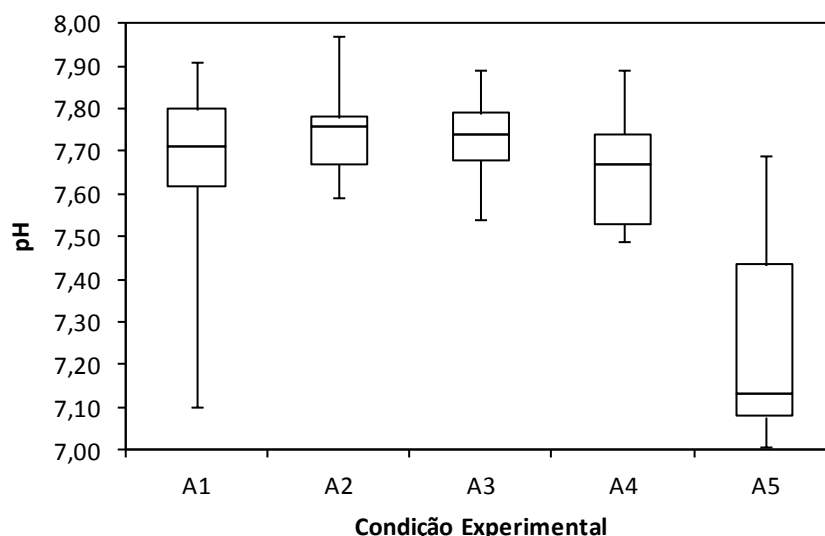


Figura 5.3. Valores de pH em *box plot* para as condições experimentais da ETAPA A

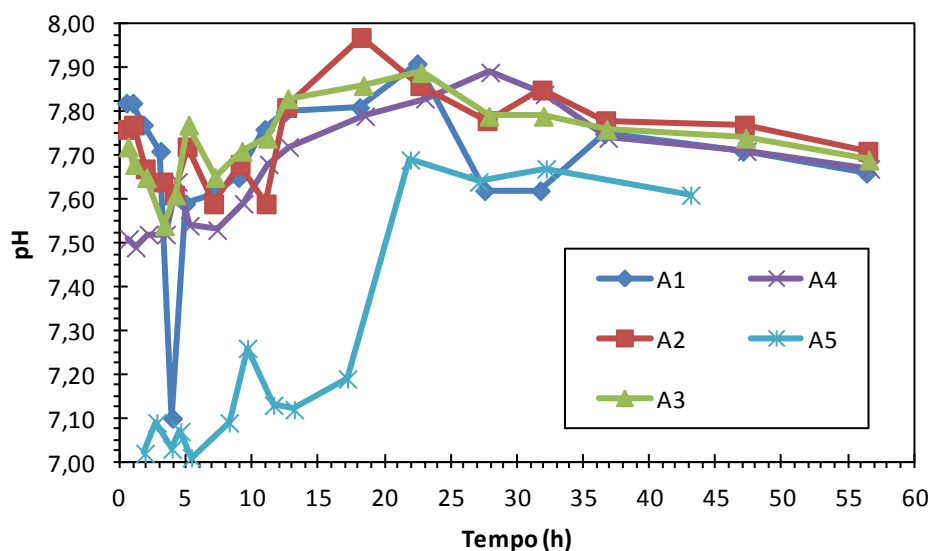


Figura 5.4. Valores de pH em função do tempo para cada condição da ETAPA A

Vale também ressaltar que o pH é um fator importante na atividade dos íons Cd^{2+} , e consequentemente figura como um fator interferente na mobilidade do íon adsorvido, assim é interessante que o pH apresente pouca variação. Observou-se que o

pH na condição A5 iniciou-se ligeiramente abaixo em relação às outras condições dessa etapa, entretanto não o suficiente para interferir no fenômeno de adsorção ou nas atividades metabólicas.

Consumo de Substrato

O consumo de substrato nos ensaios foi maior que 95% em todos os ensaios da ETAPA A, não ocorrendo inibição dos processos anaeróbios pela presença do cádmio. No ensaio de maior concentração de cádmio, A5, o início das atividades catalíticas apresentaram um certo atraso quando comparado aos outros ensaios. Na Figura 5.5 é possível observar a variação da concentração de matéria orgânica e de substrato em função do tempo, e também os ajustes realizados.

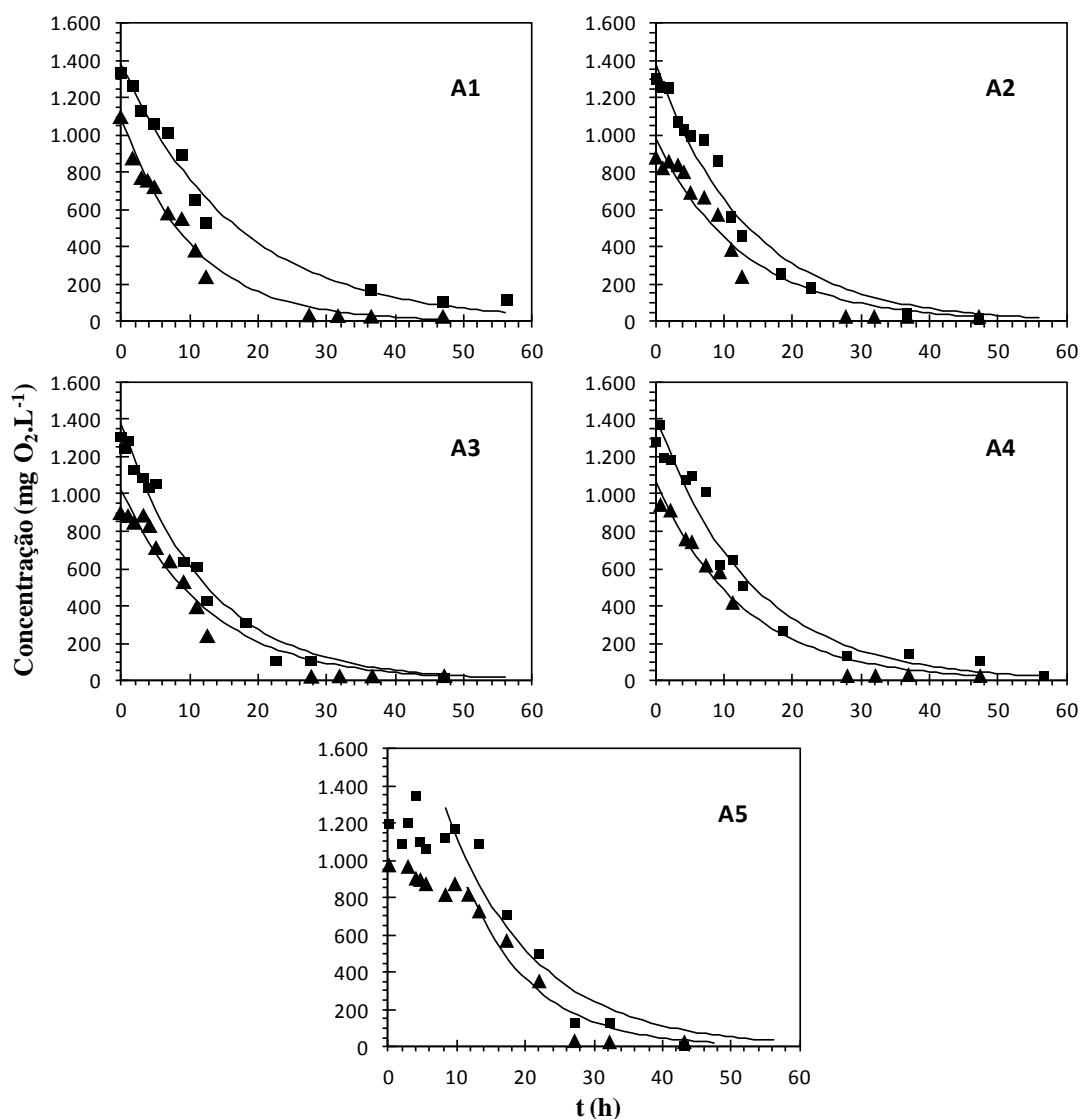


Figura 5.5. Concentração de matéria orgânica em termos de DQO (■) e ácido acético (▲) para cada ensaio da ETAPA A

Apesar de não ter sido construída a curva de crescimento dos ensaios, é possível inferir que no ensaio A5 pôde ter a sua *fase lag* estendida por mais tempo quando comparada aos outros ensaios, possivelmente devido à influência do cádmio ou ao menor valor de pH. Além disso, nota-se que o ácido acético é o responsável por quase a totalidade da DQO presente.

Os resultados dos ajustes realizados para os parâmetros cinéticos são apresentados na Tabela 5.3 para a matéria orgânica e o ácido acético, respectivamente.

Tabela 5.3 – Parâmetros de ajuste cinético para ETAPA A

Condição		S_R	S_0	k_1^{app}	t_0	R^2
Experimental		$mg\ O_2.L^{-1}$	$mg\ O_2.L^{-1}$	h^{-1}	h	–
Matéria Orgânica	A1	0*	1377± 47,82	0,0591 ± 0,0056	0	0,9786
	A2	0*	1380 ± 52,83	0,0743 ± 0,0070	0	0,9596
	A3	0*	1374 ± 37,88	0,0805 ± 0,0057	0	0,9797
	A4	0*	1359 ± 51,69	0,0728 ± 0,0068	0	0,9678
	A5	0*	1278 ± 103,49	0,0765 ± 0,0137	8,95	0,9279
Ácido Acético	A1	0*	1089 ± 34,34	0,0959 ± 0,0066	0	0,9851
	A2	0*	979 ± 48,239	0,0769 ± 0,0096	0	0,9522
	A3	0*	1018 ± 48,34	0,0797 ± 0,0093	0	0,9571
	A4	0*	1069 ± 41,99	0,0789 ± 0,0070	0	0,9829
	A5	0*	856,8 ± 72,00	0,1015 ± 0,0206	8,52	0,9448

*Esses valores foram estabelecidos como nulos de modo a possibilitar a conversão do modelo cinético.

Os valores de S_R foram forçados a nulidade, de modo a possibilitar a convergência do modelo cinético e garantir sentido físico aos parâmetros, sendo que o ajuste dos parâmetros apresentou valores incoerentes quando explorado o parâmetro S_R como grau de liberdade.

Observando a Figura 5.5, é possível inferir que o cádmio não apresenta influência significativa nos ensaios A1, A2, A3 e A4, enquanto que no ensaio A5 essa influência é maior, apontando para um grau de toxicidade maior, causando a extensão da *fase lag*. Apesar disso, os parâmetros cinéticos obtidos não apresentarem distinções significativas, não estando os processos bioquímicos afetados de forma significativa pela presença do cádmio. Ressalta-se que tais resultados são limitados a análise dos ensaios realizados em batelada simples e sem realizar a adaptação do inoculo.

Ácidos Voláteis Intermediários

Os AVTs, além do ácido acético (fonte principal de carbono), não tiveram variações significativas, apresentando-se praticamente constantes e em torno de um valor baixo, quando comparado ao ácido acético. Tais resultados são apresentados na Tabela 5.4. Os AVTs não mostrados não estavam presentes nas amostras.

Tabela 5.4 – Resultados de ácidos voláteis intermediários para ETAPA A

	A1	A2	A3	A4	A5
Lático	$51,7 \pm 2,7$ (11)	$52,2 \pm 1,0$ (14)	$52,6 \pm 3,0$ (17)	$52,6 \pm 2,7$ (17)	$53,1 \pm 1,8$ (13)
Fórmico	$28,0 \pm 2,7$ (15)	$28,4 \pm 2,4$ (16)	$28,4 \pm 2,4$ (17)	$28,1 \pm 2,2$ (15)	$39,1 \pm 3,9$ (14)
Propiônico	$30,6 \pm 1,6$ (16)	$30,1 \pm 1,8$ (18)	$31,5 \pm 2,5$ (15)	$31,0 \pm 2,6$ (17)	$28,7 \pm 0,7$ (12)
Isobutírico	$37,3 \pm 4,5$ (14)	$37,6 \pm 4,9$ (17)	$37,1 \pm 4,5$ (13)	$39,0 \pm 5,1$ (14)	$44,5 \pm 1,2$ (13)
Butírico	0 ± 0 (11)	0 ± 0 (10)	$42,7 \pm 6,8$ (10)	$41,9 \pm 6,5$ (9)	0 ± 0 (14)
Valérico	$30,2 \pm 0,3$ (10)	$16,8 \pm 15,9$ (9)	$11,1 \pm 15,4$ (11)	$30,1 \pm 0,2$ (10)	$39,2 \pm 5,3$ (8)
Capróico	$19,2 \pm 18,6$ (11)	$21,6 \pm 17,3$ (11)	$19,5 \pm 17,3$ (12)	$32,8 \pm 0,1$ (7)	$59,5 \pm 10,8$ (8)

*Os valores entre parênteses referem-se ao número de amostras.

Considerando que houve apenas reações catabólicas nos ensaios, o aparecimento de ácidos de cadeia carbônica maiores que o ácido acético pode ter ocorrido, provavelmente, pela atividade endogênica ou em decorrência da hidrólise do material contido no lodo utilizado. Entretanto, tais ácidos aparecem em concentrações muito baixas quando comparados ao ácido acético, dessa maneira pode ser considerado que os ensaios representam a digestão anaeróbia acetoclástica.

Produção de Metano e Atividade Metanogênica Específica (AME)

A produção de metano específica foi ajustada à sigmoide de Boltzmann, apresentando, portanto, um ponto de máxima velocidade de produção de metano, ou seja, a AME. Tais resultados com seus ajustes e curvas de derivada primeira são apresentados na Figura 5.6.

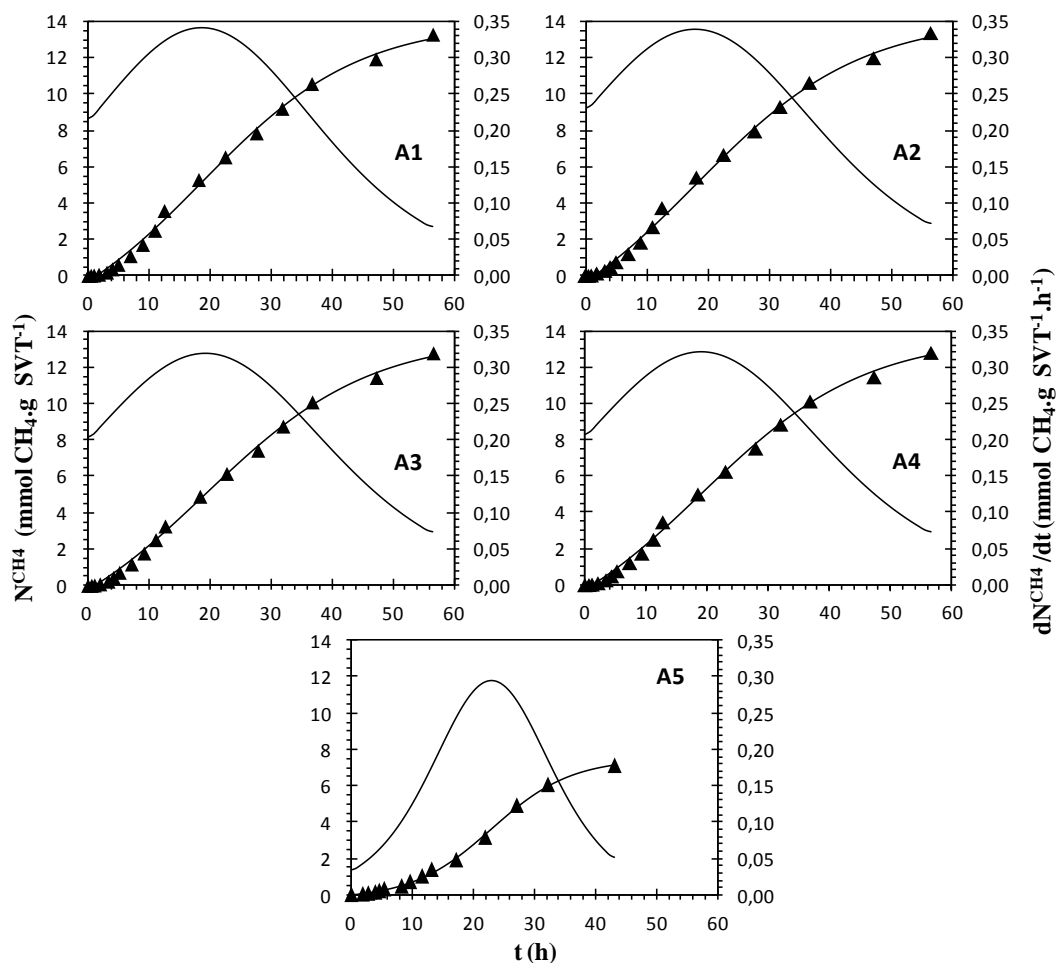


Figura 5.6. Produção molar de metano específica (\blacktriangle -eixo canhoto), ajuste a sigmoide de Boltzmann (eixo canhoto), e derivada primeira ordem (eixo destro) para ETAPA A

Os coeficientes de determinação (R^2) dos ajustes à sigmoide de Boltzmann, os valores para AME e os tempos de AME são apresentados na Tabela 5.5.

Tabela 5.5 – Coeficiente de ajuste, AME e tempo de AME para a produção de metano

Condição Experimental	R^2	AME^{CH_4} $mmol\ CH_4\cdot g\ SVT^{-1}\cdot h^{-1}$	$t_{AME}^{CH_4}$ h
A1	0,9971	0,3417	18,16
A2	0,9972	0,3381	18,19
A3	0,9981	0,3190	19,18
A4	0,9977	0,3208	19,21
A5	0,9835	0,2944	22,65

A partir da Figura 5.6, observa-se que o ensaio A5 apresenta um atraso no início da atividade metanogênica quando comparados aos outros ensaios. Esse atraso também pode ser observado pelo deslocamento da curva da derivada em direção do

eixo temporal. Esse efeito apresenta um reflexo no tempo em que ocorre a AME, conforme pode ser observado na Tabela 5.5. Pode-se inferir que isso ocorre principalmente por conta do efeito tóxico do cádmio sobre os micro-organismos.

5.3 Etapa sulfetogênica (ETAPA B)

pH

O pH permaneceu próximo a neutralidade não apresentando variações significativas, os valores aferidos nos ensaios B1, B3, B4 e B5 foram $7,58 \pm 0,18$ (14); $7,58 \pm 0,21$ (14); $7,57 \pm 0,24$ (14); e $7,33 \pm 0,38$ (14) respectivamente. Provavelmente esta variável não sofreu influência da variação da concentração de cádmio no espectro de concentrações avaliado. A Figura 5.7 resume os valores de pH observados em formado *box plot*. A variação do pH em função do tempo nas condições experimentais dessa etapa podem ser observadas na Figura 5.8.

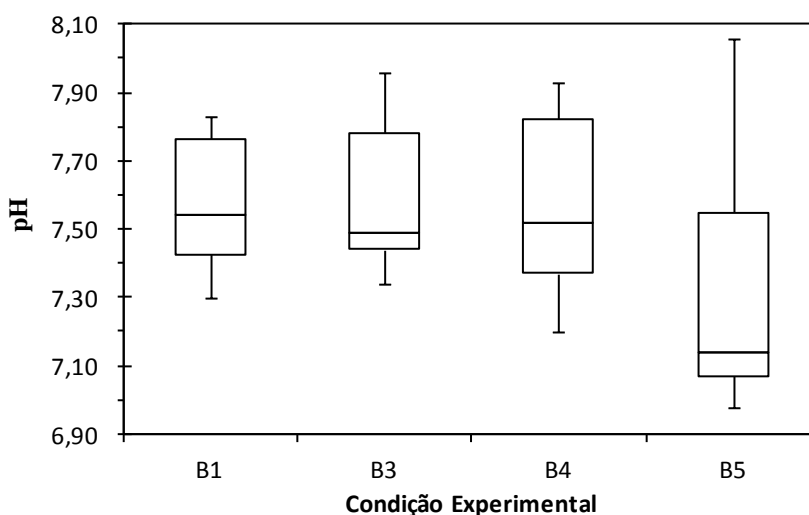


Figura 5.7. Valores de pH em *box plot* para as condições experimentais da ETAPA B

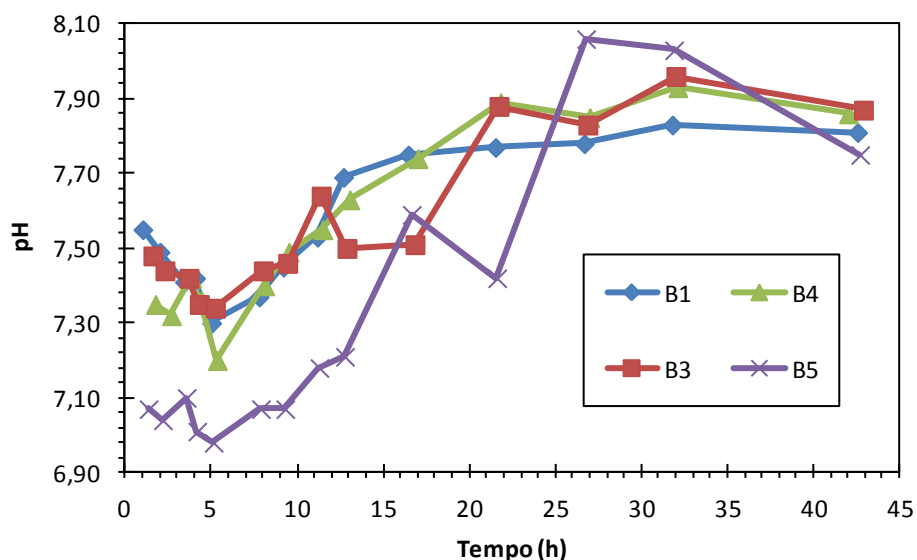


Figura 5.8. Valores de pH em função do tempo para cada condição da ETAPA B

Vale ressaltar, novamente, que o pH é um fator importante na atividade dos íons Cd^{2+} , e consequentemente figura como um fator interferente na mobilidade do íon adsorvido, assim é interessante que o pH apresente pouca variação. Observou-se que o pH na condição B5 iniciou-se ligeiramente abaixo em relação às outras condições dessa etapa, entretanto não o suficiente para interferir no fenômeno de adsorção ou nas atividades metabólicas.

Consumo de Substrato

O consumo de substrato nos ensaios foi maior que 99% em todos os ensaios da ETAPA B, não ocorrendo inibição dos processos anaeróbios pela presença do cádmio. No ensaio de maior concentração de cádmio, B5, o início das atividades catalíticas apresentaram um certo atraso quando comparado aos outros ensaios. Na Figura 5.9 é possível observar a variação da concentração de matéria orgânica e de substrato em função do tempo, e também os ajustes realizados.

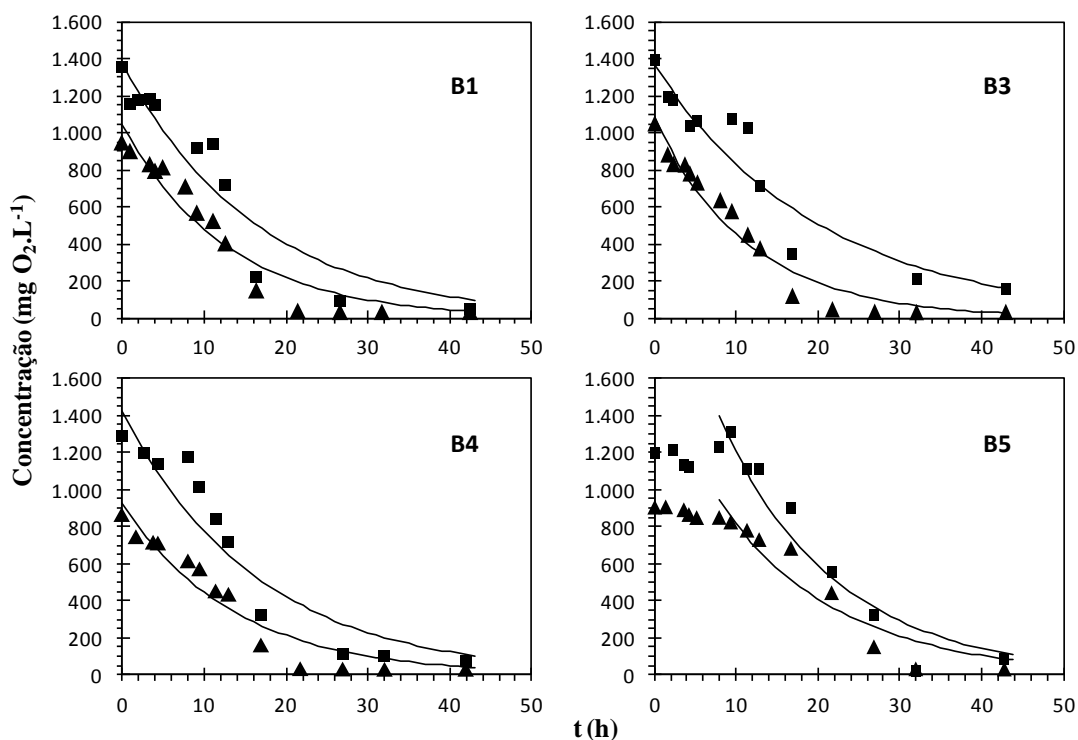


Figura 5.9. Concentração de matéria orgânica em termos de DQO (■) e ácido acético (▲) para cada ensaio da ETAPA B

Apesar de não ter sido construída a curva de crescimento dos ensaios, é possível inferir que no ensaio B5 pôde ter a sua *fase lag* estendida por mais tempo quando comparada aos outros ensaios, possivelmente devido à influência do cádmio ou ao menor valor de pH. Além disso, nota-se que o ácido acético é o responsável por quase a totalidade da DQO presente.

Os resultados dos ajustes realizados para os parâmetros cinéticos são apresentados na Tabela 5.6 para a matéria orgânica e o ácido acético, respectivamente.

Tabela 5.6 – Parâmetros de ajuste cinético para ETAPA B

Condição Experimental		S_R $mg\ O_2.L^{-1}$	S_0 $mg\ O_2.L^{-1}$	k_1^{app} h^{-1}	t_0 h	R^2 –
Matéria Orgânica	B1	0*	$1381 \pm 92,48$	$0,0618 \pm 0,0109$	0	0,9005
	B3	0*	$1367 \pm 85,35$	$0,0496 \pm 0,0085$	0	0,8977
	B4	0*	$1426 \pm 104,15$	$0,0610 \pm 0,0092$	0	0,9246
	B5	0*	$1397 \pm 90,72$	$0,0708 \pm 0,0110$	8,02	0,9376
Ácido Acético	B1	0*	$1049 \pm 62,96$	$0,0786 \pm 0,0098$	0	0,9324
	B3	0*	$1079 \pm 47,68$	$0,0863 \pm 0,0080$	0	0,9608
	B4	0*	$929,5 \pm 61,72$	$0,0737 \pm 0,0098$	0	0,9256
	B5	0*	$943,2 \pm 73,21$	$0,0683 \pm 0,0127$	7,87	0,9126

*Esses valores foram estabelecidos como nulos de modo a possibilitar a conversão do modelo cinético.

Os valores de S_R foram forçados a nulidade, de modo a possibilitar a convergência do modelo cinético e garantir sentido físico aos parâmetros, sendo que o ajuste dos parâmetros apresentou valores incoerentes quando explorado o parâmetro S_R como grau de liberdade.

Observando a Figura 5.9, é possível inferir que o cádmio não apresenta influência significativa nos ensaios B1, B3 e B4, enquanto que no ensaio B5 essa influência é maior, apontando para um grau de toxicidade maior, causando a extensão da *fase lag*. Apesar disso, os parâmetros cinéticos obtidos não apresentarem distinções significativas, não estando os processos bioquímicos afetados de forma significativa pela presença do cádmio. Ressalta-se que tais resultados são limitados a análise dos ensaios realizados em batelada simples e sem realizar a adaptação do inoculo.

Ácidos Voláteis Intermediários

Os AVTs, além do ácido acético (fonte principal de carbono), não tiveram variações significativas, apresentando-se praticamente constantes e em torno de um

valor baixo, quando comparado ao ácido acético. Tais resultados são apresentados na Tabela 5.7. Os AVTs não mostrados não estavam presentes nas amostras.

Tabela 5.7 – Resultados de ácidos voláteis intermediários para ETAPA B

	B1	B3	B4	B5
Lático	57,3 ± 3,9 (15)	52,5 ± 1,0 (10)	52,7 ± 1,1 (13)	52,7 ± 1,6 (9)
Fórmico	39,9 ± 3,3 (15)	38,3 ± 2,9 (15)	38,7 ± 2,9 (13)	39,7 ± 2,7 (13)
Propiônico	30,8 ± 1,6 (13)	29,5 ± 0,5 (11)	29,4 ± 0,4 (12)	29,6 ± 0,5 (15)
Isobutírico	43,6 ± 1,2 (14)	46,3 ± 0,9 (13)	42,4 ± 0,9 (12)	42,9 ± 2,6 (15)

*Os valores entre parênteses referem-se ao número de amostras.

Considerando que houve apenas reações catabólicas nos ensaios, o aparecimento de ácidos de cadeia carbônica maiores que o ácido acético pode ter ocorrido, provavelmente, pela atividade endogênica ou em decorrência da hidrólise do material contido no lodo utilizado. Entretanto, tais ácidos aparecem em concentrações muito baixas quando comparados ao ácido acético, dessa maneira pode ser considerado que os ensaios representam a digestão anaeróbia acetoclástica.

Produção de Metano e Atividade Metanogênica Específica (AME)

A produção de metano específica foi ajustada à sigmoide de Boltzmann, apresentando, portanto, um ponto de máxima velocidade de produção de metano, ou seja, a AME. Tais resultados com seus ajustes e curvas de derivada primeira são apresentados na Figura 5.10.

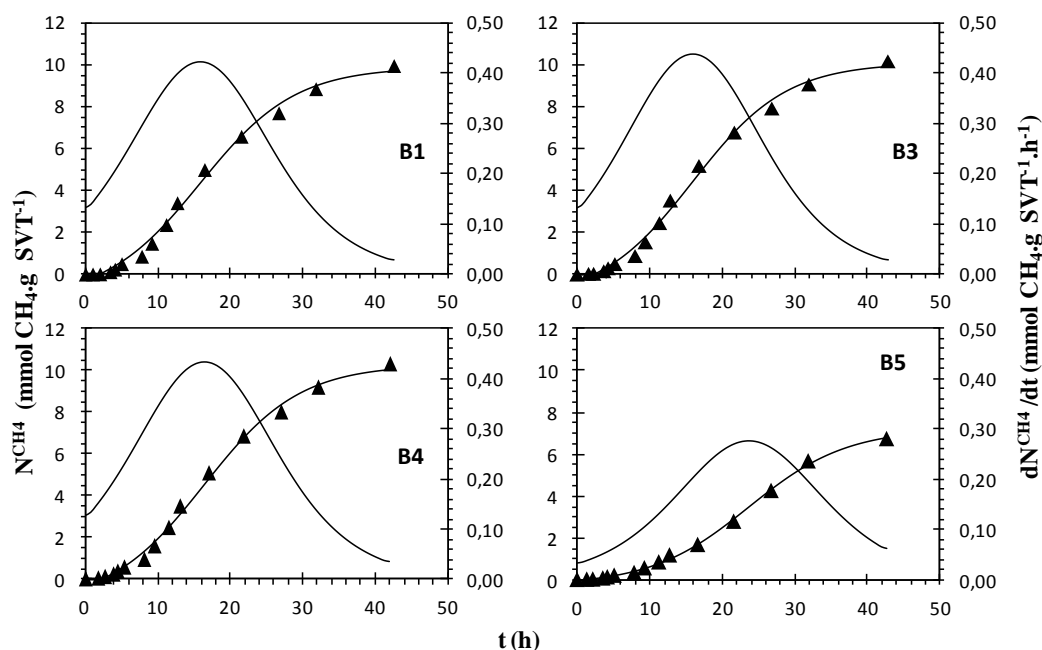


Figura 5.10. Produção molar de metano específica (\blacktriangle -eixo canhoto), ajuste a sigmoide de Boltzmann (eixo canhoto), e derivada primeira ordem (eixo destro) para ETAPA B

Os coeficientes de determinação (R^2) dos ajustes à sigmoide de Boltzmann, os valores para AME e os tempos de AME são apresentados na Tabela 5.8.

Tabela 5.8 – Coeficiente de ajuste, AME e tempo de AME para a produção de metano

Condição Experimental	R^2	AME^{CH_4} $mmol CH_4.g SVT^{-1}.h^{-1}$	$t_{AME}^{CH_4}$ h
B1	0,9944	0,4226	15,87
B3	0,9947	0,4366	15,99
B4	0,9960	0,4331	16,38
B5	0,9985	0,2757	23,88

A partir da Figura 5.10, observa-se que o ensaio B5 apresenta um atraso no início da atividade metanogênica quando comparados aos outros ensaios. Esse atraso também pode ser observado pelo deslocamento da curva da derivada em direção do eixo temporal. Esse efeito apresenta um reflexo no tempo em que ocorre a AME, conforme pode ser observado na Tabela 5.8. Pode-se inferir que isso ocorre principalmente por conta do efeito tóxico do cádmio sobre os micro-organismos. Também é possível observar que a AME, ou a máxima velocidade de conversão de

substrato em metano, também foi menos expressiva no ensaio B5 quando comparada aos valores dos outros ensaios, possivelmente devido ao mesmo motivo.

Produção de Sulfeto de Hidrogênio e Atividade Sulfetogênica Específica (ASE)

A produção de sulfeto de hidrogênio específica foi ajustada à sigmoide de Boltzmann, apresentando, portanto, um ponto de máxima velocidade de produção de sulfeto de hidrogênio, ou seja, a ASE. Tais resultados são apresentados na Figura 5.11.

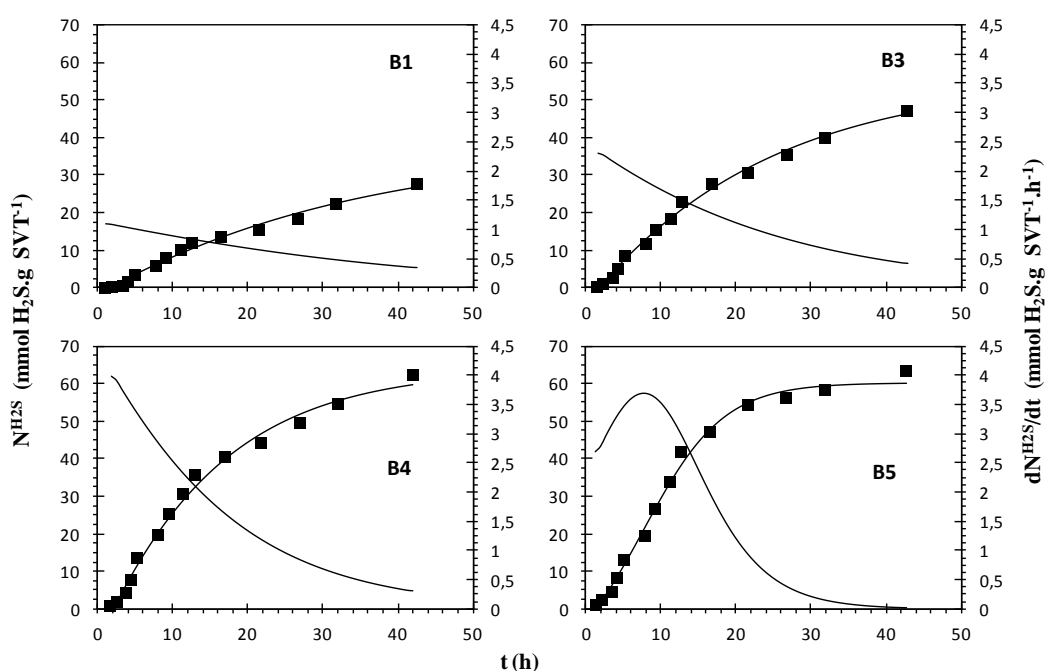


Figura 5.11. Produção molar de sulfeto de hidrogênio específica (■-eixo canhoto), ajuste à sigmoide de Boltzmann (eixo canhoto), derivada primeira ordem (eixo destro) para ETAPA B

Os coeficientes de determinação (R^2) dos ajustes à sigmoide de Boltzmann, os valores para ASE e os tempos de ASE são apresentados na Tabela 5.9.

Tabela 5.9 – Coeficiente de ajuste, ASE e tempo de ASE para a produção de sulfeto de hidrogênio para ETAPA B

Condição Experimental	R^2	ASE^{H_2S} $mmol H_2S.g SVT^{-1}.h^{-1}$	$t_{ASE}^{H_2S}$ h
B1	0,9882	1,0836	1,00
B3	0,9950	2,3000	1,58
B4	0,9914	3,9919	1,73
B5	0,9938	3,6930	7,64

A partir da Tabela 5.9 observa-se que o tempo em que a ASE ocorre se dá no primeiro ponto de amostragem para os ensaios B1, B3 e B4, o que indica que a atividade sulfetogênica foi suprimida por algum fator, e esteve em declínio durante tais ensaios.

Ainda, na Figura 5.11 observa-se que a atividade sulfetogênica foi mais expressiva nos ensaios em que a atividade metanogênica foi menos expressiva, evidenciando o estabelecimento de condição de competição entre essas atividades. Isso pode ocorrer devido a influência do cádmio nos metabolismos, possivelmente o efeito tóxico do cádmio pode ter exercido uma regulação das atividades, ora prevalecendo a atividade metanogênica, ora a sulfetogênica.

Assim, apesar da maior concentração de cádmio possibilitar a maior atividade sulfetogênica, observa-se também que ocorre uma maior *fase lag* no ensaio com maior concentração de cádmio. Pode-se inferir que o cádmio possui capacidade inibidora de ambas as atividades em níveis diferentes, sendo a atividade metanogênica possivelmente a mais susceptível.

5.4 Considerações finais

Comparando a atividade metanogênica em ambas as etapas, é possível observar que esse metabolismo ocorreu de forma mais expressiva na ETAPA A do que na ETAPA B, o que indica o estabelecimento de uma relação competitiva entre as comunidades metanogênicas e sulfetogênicas, conforme indicado pela bibliografia.

Entretanto, a ETAPA B apresentou maiores valores de AME do que a ETAPA A, o que pode indicar que a atividade metanogênica, apesar de em competição com a sulfetogênica, esteve sobre a proteção da atividade sulfetogênica devido a formação e

precipitação de CdS, mesmo que de forma pouco expressiva quando comparado com o fenômeno de adsorção. A Figura 5.12 facilita essa comparação.

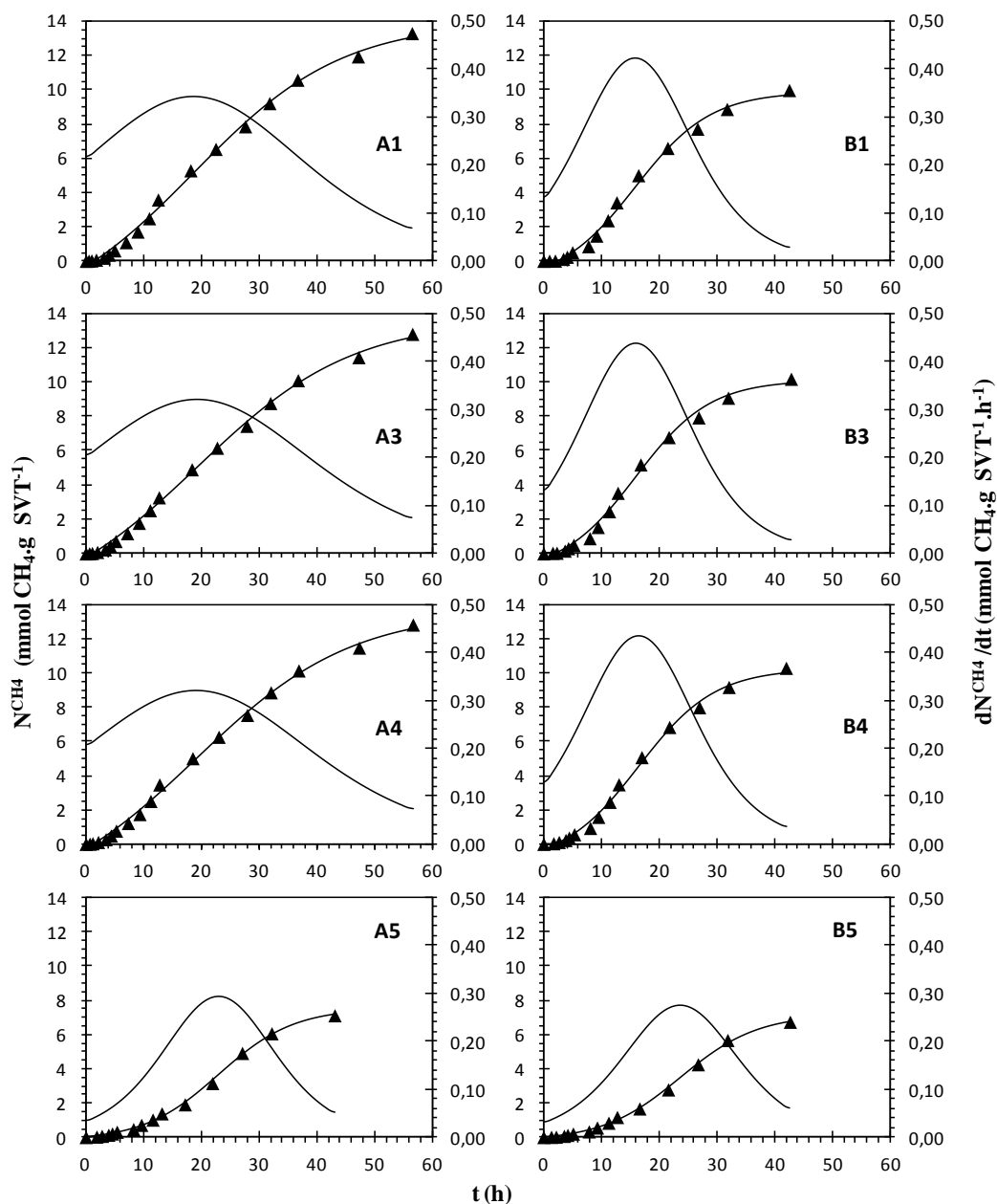


Figura 5.12. Produção molar de metano específica (\blacktriangle -eixo canhoto), ajuste a sigmoide de Boltzmann (eixo canhoto), e derivada primeira ordem (eixo destro)

De um modo geral, analisando os resultados, nota-se que a presença do cádmio apresenta uma influência nas atividades metabólicas, na atividade metanogênica e na atividade sulfetogênica. Observou-se que, com o aumento da concentração, há também aumento do tempo da AME e da ASE, possivelmente causa da extensão da *fase lag*, essa relação pode ser observada na Figura 5.13.

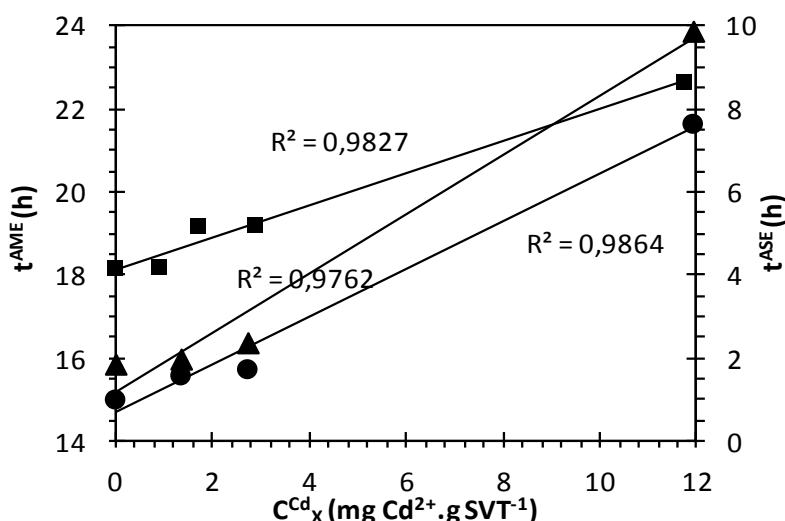


Figura 5.13. Tempo de ocorrência da AME e ASE em função da concentração de cádmio adsorvido para a atividade metanogênica na ETAPA A (■-eixo canhoto), na ETAPA B (▲-eixo canhoto), e atividade sulfetogênica na ETAPA B (●-eixo destro)

Os valores do coeficiente angular, o coeficiente linear e de R^2 para as retas que descrevem as relações entre o tempo de AME e ASE com a concentração de cádmio adsorvido são mostrados na Tabela 5.10.

Tabela 5.10 – Coeficiente de angular, coeficiente linear e R^2

Condição Experimental	Coeficiente Angular	Coeficiente Linear	R^2
ETAPA A: Metanogênico	0,39	18,14	0,9826
ETAPA B: Metanogênico	0,72	15,16	0,9764
ETAPA B: Sulfetogênico	0,57	0,69	0,9864

A partir da Figura 5.13 e da Tabela 5.10, é possível observar que o aumento da concentração de cádmio tem uma influência mais significativa na atividade metanogênica quando concomitante a atividade sulfetogênica do que quando única atividade predominante. Isso ocorre principalmente pela relação de competição entre ambas as atividades aliado, talvez, a possibilidade desse contaminante ser mais agressivo para a comunidade metanogênica do que a sulfetogênica.

Além disso, a influência tóxica do cádmio estende com maior intensidade a *fase lag* da atividade sulfetogênica do que a metanogênica, embora a atividade sulfetogênica seja mais resistente do que a metanogênica, possivelmente por conta dos

consórcios microbianos formados e, também, pela bioprecipitação de cádmio, o que pode ser observado quando comparadas as Figuras 5.11 e 5.12. Avaliar o efeito do sulfeto na remoção de cádmio torna-se pouco viável, uma vez que o fenômeno de bioprecipitação foi pouco expressivo, devido a rapidez com que ocorreu o fenômeno de adsorção na biomassa.

6 CONCLUSÕES

*“The word 'progress' has no sense
as long as there will be unfortunate children.”*

Albert Einstein

A partir dos resultados e das discussões apresentadas, é realizado o fechamento do trabalho com a dedução e conclusão do mesmo, com base no teste das hipóteses levantadas anteriormente para avaliar o efeito do cádmio na catálise de acetato de sódio pela atividade metanogênica e sulfetogênica de lodo granular anaeróbio crescendo em meio sintético com baixa concentração de substrato sobre temperatura constante em sistema em batelada. Pode-se então, chegar a algumas conclusões a partir do observado e do proposto nos objetivos nesse trabalho:

- O fenômeno de adsorção do cádmio na biomassa ocorre de forma rápida. A isoterma de Freundlich é uma boa alternativa para representar esse fenômeno (K igual a 0,8721; e N igual 1,0520).
- Apesar da presença tóxica do cádmio a degradação da matéria orgânica e do substrato adicionado apresentou baixas concentrações residuais de substrato em todos os ensaios.
- Ocorre a influência inibitória da atividade metanogênica pela presença do cádmio, entretanto não completamente, a atividade metanogênica ocorre, corroborando a Tese 1b.
- A influência do cádmio na atividade sulfetogênica não ocorre de forma evidente, a atividade sulfetogênica pareceu estar mais suscetível a condição de competição do que ao efeito inibitório do contaminante, corroborando a Tese 2c.

- A competição pelo substrato entre a atividade metanogênica e sulfetogênica é fortemente estabelecida na condição de $[DQO]/[SO_4^{2-}] = 0,67$, como também já observado pela literatura.
- Não foi possível verificar se a atividade sulfetogênica propicia a proteção da atividade metanogênica da ação do cádmio, devido a rapidez com que o fenômeno de adsorção ocorre.

Ainda, é possível discriminar sugestões para futuros trabalhos:

- A avaliação da susceptibilidade à contaminação aguda por cádmio de ambas as atividades ocorrendo concomitantemente pode ser interessante quando não em condição de competição, ou seja, com relações $[DQO]/[SO_4^{2-}] > 0,67$. De modo a determinar uma relação que propicie as melhores condições para a produção de metano através da proteção pela bioprecipitação quando da presença de cádmio.
- Pode ser interessante a realização de ensaios com maiores concentrações de cádmio de modo a estimar as condições para que a Tese 1c seja corroborada, supondo-se que isso possa ocorrer.
- A realização de ensaios com maiores concentrações de cádmio para verificar a toxicidade deste na atividade sulfetogênica pode ser interessante, de modo a definir até que concentração máxima desse contaminante é viável a atividade sulfetogênica e, consequentemente, a bioprecipitação.
- É interessante a realização de ensaios com inóculo previamente adaptado as condições experimentais, tanto na contaminação aguda quanto na crônica.

Finalizando, as relações que se estabelecem entre as bactérias metanogênicas e sulfetogênicas mostram-se como uma interessante forma de amenizar os efeitos tóxicos do cádmio na biomassa metanogênica pela bioprecipitação do sulfeto de cádmio.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

“Who am I being, that my children's eyes are not shining?”

Benjamin Zander

ALTAŞ, L. Inhibitory effect of heavy metals on methane-producing anaerobic granular sludge. *Journal of Hazardous Materials* 162, pp. 1551–1556. 2009.

APHA; AWWA; WPCF. *Standard Methods for the Examination of water and wastewater*. 21. ed. Washington, DC: American Public Health Association. 2005.

AQUINO, S.F.; CHERNICHARO, C.A.L; FORESTI, E.; SANTOS, M.L.F; MONTEGGIA, L.O. Metodologias para Determinação da Atividade Metanogênica Específica (AME) em Lodos Anaeróbios. *Eng. Sanit. Ambient.*, Rio de Janeiro, v. 12, n. 2. 2007.

BENAVIDES, M.P.; BALESTRASSE, K.B.; GALLEGU, S.M.; TOMARO, M.L. Polyamines and proline are affected by cadmium stress in nodules and roots of soybean plants. *Plant and Soil*, Volume 270, Number 1, pp. 343-353. 2005.

BENGUELLA, B. BENAÏSSA, H. Cadmium removal from aqueous solution by chitin: kinetic and equilibrium studies. *Water Res.* 36, 2463-2474. 2002.

BRUCE, A.M.; KUZELI-KATSIRI, A.; NEWMAN, P.J. *Anaerobic digestion of sewage sludge and organic agricultural wastes*. Elsevier applied science publishers, London and New York, p. 155. 1986.

CHERNICHARO, C.A.L. *Reatores anaeróbios: princípios do tratamento biológico de águas residuárias*. Departamento de engenharia sanitária e ambiental, UFMG, Belo Horizonte. p. 246. 1997

CHERNICHARO, C.A.L.; BORGES, A.M.; MESQUITA, L.C.P.; DIAS, A.M.A. Desenvolvimento de um respirômetro automatizado para avaliação da atividade microbiana anaeróbia. *Revista de Engenharia Sanitária*, v. 2, n. 3-4, p. 120-126, 1997.

CODINA, J.C.; MUÑOZ, M.A.; CAZORLA, F.M.; GARCÍA, A.P.; MORIÑIGO, M.A.; e de VICENTE, A. The inhibition of methanogenic activity from anaerobic domestic sludges as a simple toxicity bioassay. *Wat. Res.* Vol. 32, No. 4, pp. 1338 - 1342. 1998.

COHEN, A. Effects of some industrial chemicals on methanogenic activity measured by sequential automated methanometry (SAM). In: *PROCEEDINGS OF VI INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ANAEROBIC DIGESTION*. São Paulo, p. 11-20, 1991.

COLLERAN, E.; CONCANNON, F.; GOLDEN, T.; GEOGHEGAN, F.; CRUMLISH, B.; KILLILEA, E.; HENRY, M.; COATES, J. Use of a Methanogenic Activity Tests to Characterize Anaerobic Biodegradability and Determine Toxicity Thresholds Against Individual Anaerobic Sludges, Screen for Anaerobic Trophic Groups and Species. In: *Sixth International Symposium on Anaerobic Digestion*. São Paulo, 1991. *Anais. São Paulo, IAWPRC/ABES/CETESB/IPT/SABESP*. p. 31-32, 1991.

de ZEEUW, W. J. Acclimatization of Anaerobic Sludge for UASB-Reactor Start-up. Doctoral Thesis. Agricultural University Wageningen, The Netherlands: 157p., 1984.

DEGRAEVE, N. Carcinogenic, teratogenic and mutagenic effects of cadmium. *Mutat. Res.* 86, pp. 115 – 135. 1981.

di TOPPI, L.S.; GABBRIELLI, R. Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botany*, 41, pp. 105–130. 1999.

DOLFING, J., BLOEMEN, G. B. M. Activity measurements as a tool to characterize the microbial composition of methanogenic environments. *J. Microbiological Methods*, v. 4, p. 1-12, 1985.

FANG, H.H.P. e CHUI, H.K. Microstructural analysis of anaerobic granules. *Biotechnol. Tech.* 7(7), 479–482. 1993b.

FANG, H.H.P. e HUI, H.H. Effect of heavy metals on the methanogenic activity of starch-degrading granules. *Biotechnology letters*. Volume 16 No.10 pp.1091-1096. 1994.

FANG, H.H.P.; KWONG, T.S. degradation of starch particulates in a hybrid reactor. *Water science and technology*, vol 30, pp. 97-104. 1994.

FORESTI, E.; FLORÊNCIO, L.; HAANDEL, A.V.; ZAIAT, M.; CAVALCANTI, P.F.F. Fundamentos do Tratamento Anaeróbio. In: CAMPOS, J.R. (organizador). *Tratamento de Esgotos Sanitários por Processo Anaeróbio e Disposição Controlada no Solo*. PROSAB, Rio de Janeiro, p. 436. 1999.

FREUNDLICH, H. e NEUMANN, W. On the adsorption of dyeing materials. *Zeitschrift fur physikalische chemie--stochiometrie und verwandtschaftslehre*, vol. 67, issue 5, pp. 538-550. 1909

GRANTÃO, P.L.; POLLE, A.; LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Functional Plant Biology*, 32, pp. 481-494. 2005.

IARC: INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Beryllium, Cadmium, Mercury and Exposures in the Glass Manufacturing Industry, 9283212584, vol. 58 International Agency for Research on Cancer, Lyon, USA, pp. 119–238. 1993.

JAMES A.; CHERNICHARO C.A.L.; CAMPOS C.M.M. The development of a methodology for the assessment of specific methanogenic activity. *Water Res* v. 24, 1990. pp. 813-825. 1990

LANGMUIR, I. The constitution and fundamental properties of solids and liquids Part I Solids. *Journal of the american chemical society*, vol. 38,. pp. 2221–2295. 1916

LESTER, J.N. Heavy metals in wastewater and sludge treatment processes. Fla. CRC Press, vol. 1-2. 1987.

LEVENSPIEL, O. Chemical Reaction Engineering. 3rd Ed. EUA, 1998.

LEWIS, A.E. Review of Metal Sulphide Precipitation. *Hydrometallurgy* 104, pp. 222-234. 2010.

MACLEOD, F.A.; GUIOT, S.R.;e COSTERTON, J. W. Layered structure of bacterial aggregates produced in an upflow anaerobic sludge bed and filter reactor. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, pp. 1598-1607. 1990.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; DUNLAP, P.V.; CLARK, D.P. *Microbiologia de Brock*. 12a edição. Porto Alegre: Artmed, pp. 1160. 2010.

MARTIN, S. e GRISWOLD, W. Human Health Effects of Heavy Metals. Center for Hazardous Substance Research, Kansas State University. 2009.

MIQUEL, G. Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Relatório de informação número 261. Gabinete parlamentar de aaliação de tecnologias e ciência. 2001.

MOCKAITIS, G. Remoção de Cd^{2+} e Cu^{2+} de Águas Residuárias Utilizando Biorreator Anaeróbio Contínuo de Leito Fixo Ordenado. Tese de doutorado. USP, São Carlos. 2011.

MONTEGGIA, L. Proposta de metodologia para avaliação do parâmetro 'Atividade Metanogênica Específica'. In: 19^o congresso brasileiro de engenharia sanitária e ambiental, ABES, Foz do Iguaçu. 1997

MUYZER, G. e STAMS, A.J.M. The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria, Nature Reviews Microbiology, vol 6, pp. 441-454. 2008.

PAGNANELLI, F.; VIGGI, C.C.; TORO, L. Isolation and quantification of cadmium removal mechanisms in batch reactors inoculated by sulphate reducing bacteria: Biosorption versus bioprecipitation. Bioresource Technology 101, pp. 2981–2987. 2010.

PENNA, J. A. Estudo da Metodologia do Teste de Atividade Metanogênica Específica. Tese de doutorado. USP, São Carlos. 1994.

PENNA, J.A.; VAZOLLER, R.; CAMPOS, J.R. Estudo da metodologia de atividade metanogênica específica. In: Anais 18^o congresso brasileiro de engenharia sanitária e ambiental, ABES, Salvador. 1995.

RASKIN, I.; SMITH, R.D.; SALT, D.E. Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. Current Opinion in Biotechnology, 8, pp. 221–226. 1997.

SANDER, R. Compilation of Henry's Law Constants for Inorganic and Organic Species of Potential Importance in Environmental Chemistry. 1999. <http://www.mpch-mainz.mpg.de/~sander/res/henry.html>

SILVA, A. J. Biodessulfatação com Posterior Oxidação Parcial do Sulfeto em Reatores Operados em Bateladas Sequenciais. Dissertação de Doutorado – SHS-EESC-USP, São Carlos, SP. 2005.

SOTO, M.; MENDEZ, M.; LEDA, J.M. Characterization and Comparison of Biomass from Mesophilic and Thermophilic Fixed Bed Anaerobic Digesters. In: Sixth International Symposium on Anaerobic Digestion. São Paulo, 1991. Anais. São Paulo, IAWPRC/ABES/CETESB/IPT/SABESP, p. 181-190. 1991.

SOUZA, C. L., AQUINO, S. F., CHERNICHARO, C. A. L. Determinação da biodegradabilidade anaeróbia e aeróbia da espuma produzida em reatores UASB tratando esgotos domésticos. In: XV SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, Recife, 2005.

THIJSEN, S.; CUYPERS, A.; MARINGWA, J.; SMEETS, K.; HOREMANS, N.; LAMBRICHTS, I.; Van KERKHOVE, E. Low cadmium exposure triggers a biphasic oxidative stress response in mice kidneys. *Toxicology*, 236, pp. 29–41. 2007.

VALCKE, D., VERSTRAETE, W. A Practical method to estimate the acetoclastic methanogenic biomass in anaerobic reactors. *J. Water Pollution Control Federation*, v. 55, p. 1191-1195. 1983.

VAZOLLER, R.F. Estudos sobre isolamento, caracterização e crescimento de culturas puras de bactérias metanogênicas provenientes de biodigestores de lodo de esgoto. p. 145. São Paulo, 1989.

VISSER, A.; GAO, V.; LETTINGA, G. Anaerobic treatment of Synthetic Sulfate Containing Wastewater under Thermophilic Conditions. In: Sixth International Symposium on Anaerobic Digestion. São Paulo, 1991. Anais. São Paulo, IAWPRC/ABES/CETESB/IPT/SABESP. p.171-180, 1991.