

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
ESCOLA DE ENGENHARIA INDUSTRIAL METALÚRGICA DE VOLTA REDONDA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA AMBIENTAL

MATEUS PEIXOTO OLIVEIRA

DESENVOLVIMENTO DE UM BIOFILTRO À BASE DE FIBRA VEGETAL PARA
TRATAMENTO DE EFLUENTE DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL UTILIZANDO
INÓCULO DE *Shewanella amazonensis*

VOLTA REDONDA
2023

MATEUS PEIXOTO OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO DE UM BIOFILTRO À BASE DE FIBRA VEGETAL PARA
TRATAMENTO DE EFLUENTE DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL UTILIZANDO
INÓCULO DE *Shewanella amazonensis***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Tecnologia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Gilmar Clemente Silva
Coorientadora: Prof. Dra. Teresa Cristina Brazil de Paiva

Volta Redonda, RJ
2023

Ficha catalográfica automática - SDC/BEM
Gerada com informações fornecidas pelo autor

O48d Oliveira, Mateus Peixoto
Desenvolvimento de um Biofiltro à Base de Fibra Vegetal para Tratamento de Efluente da Produção de Biodiesel utilizando Inóculo de *Shewanella amazonensis* / Mateus Peixoto Oliveira. - 2023.
66 f.

Orientador: Gilmar Clemente Silva.
Coorientador: Teresa Cristina Brazil de Paiva.
Dissertação (mestrado)-Universidade Federal Fluminense, Escola de Engenharia Industrial e Metalúrgica de Volta Redonda, Volta Redonda, 2023.

1. Biofiltro. 2. Bucha vegetal. 3. Efluente de biodiesel. 4. Tratamento de efluentes. 5. Produção intelectual. I. Silva, Gilmar Clemente, orientador. II. Paiva, Teresa Cristina Brazil de, coorientador. III. Universidade Federal Fluminense. Escola de Engenharia Industrial e Metalúrgica de Volta Redonda. IV. Título.

CDD - XXX

MATEUS PEIXOTO OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO DE UM BIOFILTRO À BASE DE FIBRA VEGETAL PARA
TRATAMENTO DE EFLUENTE DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL UTILIZANDO
INÓCULO DE *Shewanella amazonensis***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Tecnologia Ambiental.

Aprovada em 27 de fevereiro de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Gilmar Clemente Silva – UFF
Orientador

Prof. Dr. André Marques dos Santos – UFRRJ

Prof. Dr. Rodrigo José Marassi – IFRJ

Volta Redonda
2023

À minha mãe Kátia, por ser meu maior alicerce
e sempre acreditar em mim.

À minha avó Amália, pela compreensão,
carinho e amor incondicionais.

Às minhas tias Cora e Kilza, por exercerem o
papel de minhas outras mães e pelo apoio em
todas as circunstâncias.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me ilumina, me ampara e me dá forças para perseguir meus sonhos e me superar continuamente.

À minha família, em especial à minha mãe Kátia, que estiveram e estão presentes em todos os momentos, que me presentearam com a melhor educação possível e que representam a minha essência e minhas conquistas.

Aos meus colegas de mestrado/laboratório Samara, Gabriela, Renata, Pedro, Álef, Thiago e ao Geuff, por me socorrerem nos momentos de aperto, por me terem me dado todo o suporte na realização dos experimentos e por terem se tornado tão especiais, verdadeiros amigos.

Aos meus amigos da turma de 2020 do PGTA: Pedro Saturno, Luana Moraes, Daniela Profeta, Ágatha Brito, Lucas Mesquita, Rafael Albernaz, Thiago Guimarães e Vivian Chagas, que ingressaram comigo no mestrado durante a pandemia e que me auxiliaram a me apoiaram em tantos momentos.

Ao meu orientador e amigo Prof. Dr. Gilmar e demais professores do corpo docente do PGTA, por toda a paciência, compreensão, competência, humanidade e conhecimentos passados ao longo da minha formação.

Aos técnicos de laboratório da Universidade Federal Fluminense – UFF, em especial ao Everson e Alexandre, pelo amparo técnico oferecido em tantos momentos durante as práticas.

A minha grande amiga e companheira de profissão Marina Jardim e a toda equipe da VWA Consultoria Ambiental, pela assistência técnica e disponibilização de material para realização de grande parte das análises da pesquisa.

Ao meu companheiro e melhor amigo Sérgio Venancio, por sempre acreditar em mim e no meu potencial, pelos tantos incentivos e por caminhar ao meu lado neste período.

Ao auxílio financeiro fornecido pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), em conjunto com a Universidade Federal Fluminense (UFF), com o qual pude trilhar o mestrado com tranquilidade.

“Eu aprendi que nunca somos
pequenos demais para fazer a diferença.”

(Greta Thunberg)

RESUMO

A produção de biocombustíveis como o biodiesel ganha cada vez mais espaço no setor energético, graças a inúmeras vantagens em relação ao diesel de petróleo, como os baixos índices de emissões poluentes na combustão e sua natureza renovável. Contudo, uma das etapas da cadeia produtiva do biodiesel consiste na purificação da fração aquosa, o que promove a geração de um efluente cuja constituição pode ter poluentes danosos aos ecossistemas e principalmente aos recursos hídricos. Assim sendo, a cadeia produtiva do biodiesel carece de tecnologias de tratamento do efluente de lavagem, as quais aliem aspectos vantajosos como o baixo custo, ganhos ambientais, simplicidade, pequenas áreas requeridas e tempos de operação reduzidos. Os processos de tratamento biológico com suporte para crescimento de biofilme fixo têm se destacado na redução de contaminantes de águas residuárias, porém a maioria destes meios físicos são compostos por material plástico. Tendo em vista necessidades econômicas e ambientais, a utilização de materiais naturais e biodegradáveis torna-se um diferencial. Neste contexto, a bucha vegetal (*Luffa cylindrica*) é uma fibra natural com potencial para ser investigada a fim de contribuir com o desenvolvimento de técnicas associadas ao tratamento de efluentes, como os gerados no processo produtivo do biodiesel. Desta forma, a presente pesquisa buscou avaliar o desempenho do tratamento de um sistema no qual a bucha vegetal atua como um biofiltro para um efluente de lavagem da produção de biodiesel. As performances de redução de DBO e DQO com inoculação da bactéria foram analisadas em função de três períodos de tratamento (6h, 12h e 24h) e quatro massas de biofiltro (1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 g). Além disso, foram realizados ensaios de controle (sem inoculação). Em relação a ambos os parâmetros, foram atingidas altas eficiências de tratamento nos ensaios com inoculação, entre 82,63 e 94,87% para DQO e entre 81,45 e 98,54% para DBO. Foi possível determinar que o tratamento ótimo foi o que combinou a massa de 2,0 g no tempo de 24 horas (DQO). Constatou-se ainda que o período de 12 horas de tratamento foi o mais eficiente na redução de DBO. Na maioria dos ensaios, é possível que a espécie inoculada tenha favorecido o tratamento do efluente, devido aos resultados controle. Concluiu-se que o sistema constituído por bucha vegetal combinada com *S. amazonensis* é capaz de reduzir DQO e DBO do efluente da produção de biodiesel satisfatoriamente. É válida a realização de pesquisas mais aprofundadas que busquem avaliar outras massas e períodos de tratamento.

Palavras-chave: Crescimento de biofilme. Efluente de lavagem do biodiesel. *Luffa cylindrica*. Redução de DBO. Redução de DQO.

ABSTRACT

The production of biofuels such as biodiesel is gaining more space in the energy sector, thanks to numerous advantages over petroleum diesel, such as low levels of polluting emissions in combustion and its renewable nature. However, one of the stages of the production chain of biodiesel consists in the purification of the aqueous fraction, which promotes the generation of an effluent whose constitution might contain harmful pollutants to ecosystems and especially to water resources. Therefore, the biodiesel production chain requires wash-water treatment technologies, which combine advantageous aspects such as low cost, environmental gains, simplicity, small areas and reduced operating times. Biological treatment processes with support for fixed biofilm growth have been highlighted in the reduction of contaminants from wastewater, but most of these physical carriers are composed of plastic material. In view of economic and environmental needs, the use of natural and biodegradable materials becomes a differential. In this context, loofah sponge (*Luffa cylindrica*) is a natural fiber with opportune properties to be investigated to contribute to the development of techniques associated with the wastewater treatment, such as those generated in the biodiesel production process. Thus, the present research sought to evaluate the treatment performance of a system in which the loofah sponge acts as a biofilter for a washing effluent from the biodiesel production. The BOD and COD reduction performances with bacteria inoculation were analyzed according to three treatment periods (6h, 12h and 24h) and four biofilter masses (1.0; 2.0; 3.0 and 4.0 g). In addition, control trials (without inoculation) were performed. Regarding both parameters, high treatment efficiencies were achieved in the trials with inoculation, between 82.63 and 94.87% for COD and between 81.45 and 98.54% for BOD. It was possible to determine that the optimal treatment was the one that combined the mass of 2.0 g in the time of 24 hours (COD). It was also found that the period of 12 hours of treatment was the most efficient in reducing BOD. In most tests, it is possible that the inoculated species favored the treatment of the effluent, due to the control results. It was concluded that the system consisting of vegetable loofah combined with *S. amazonensis* is capable of satisfactorily reducing COD and BOD from the biodiesel production effluent. It is worth carrying out more in-depth research that seeks to evaluate other masses and treatment periods.

Keywords: Biofilm growth. Biodiesel Wash-water. *Luffa cylindrica*. BOD reduction. COD reduction.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Organograma básico da produção de biodiesel por via alcalina, p.17

Figura 2 – Imagem capturada da bucha vegetal, por meio de MEV, p. 24

Figura 3 – Discos de bucha vegetal natural (a), cobertos por alga unicelular *Chlorella sorokiniana* (b), hifas do fungo *P. chrysosporium* (c); e microscopias eletrônicas de fibras reticuladas cobertas por biofilme imobilizado de *C. sorokiniana* (d), alta resolução do anterior (e) e consórcio de algas unicelulares e filamentosas (f), p. 26

Figura 4 – Conjunto de reatores identificados pela massa de biofiltro, prontos para esterilização, p. 29

Figura 5 – Procedimento de submersão dos biofiltros no meio de cultura Ágar Luria Bertani, p. 30

Figura 6 – Camada de lodo residual decantada no fundo dos reatores após o ensaio de tratamento de 24 horas, p. 41

Figura 7 – Variação dos resultados de DQO, eficiência de redução e controles, conforme as massas de biofiltro para 6 horas de tratamento, p. 43

Figura 8 – Variação dos resultados de DQO, eficiência de redução e controles, conforme as massas de biofiltro para 12 horas de tratament, p. 44

Figura 9 – Variação dos resultados de DQO, eficiência de redução e controles, conforme as massas de biofiltro para 24 horas de tratamento, p. 46

Figura 10 – Aglomerados de cor branca espalhados nas fibras de biofiltro após o tratamento de 24 horas, p. 47

Figura 11 – Resultados médios de redução de DQO (%) para cada ensaio de tratamento realizado, em relação às massas de biofiltro, p. 48

Figura 12 – Estrutura gelatinosa observada na região inferior do biofiltro durante o tratamento de 6 horas, p. 53

Figura 13 – Variação de DBO, eficiência de redução e controles do efluente tratado conforme cada massa de biofiltro em relação ao tratamento de 6 horas, p. 54

Figura 14 – Variação de DBO, eficiência de redução e controles do efluente tratado conforme cada massa de biofiltro em relação ao tratamento de 12 horas, p. 55

Figura 15 – Variação de DBO, eficiência de redução e controles do efluente tratado conforme cada massa de biofiltro em relação ao tratamento de 24 horas, p. 56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Diferentes caracterizações do efluente de lavagem do processo produtivo e biodiesel, conforme cada tipo de matéria-prima, p. 19

Tabela 2 – Parâmetros de avaliação do efluente de biodiesel bruto, p. 27

Tabela 3 – Meio de cultura Ágar Luria Bertani utilizado na funcionalização do biofiltro, p. 30

Tabela 4 – Variação dos resultados de DQO conforme os tempos de tratamento para 1,0 g de biofiltro (massa 1), p. 36

Tabela 5 – Variação dos resultados de DQO conforme os tempos de tratamento para 2,0 g de biofiltro (massa 2), p. 38

Tabela 6 – Variação dos resultados de DQO conforme os tempos de tratamento para 3,0 g de biofiltro (massa 3), p. 39

Tabela 7 – Variação dos resultados de DQO conforme os tempos de tratamento para 4,0 g de biofiltro (massa 4), p. 40

Tabela 8 – Variação dos resultados de DBO conforme os tempos de tratamento para 1,0g de biofiltro (massa 1), p. 49

Tabela 9 – Variação dos resultados de DBO conforme os tempos de tratamento para 2,0g de biofiltro (massa 2), p. 50

Tabela 10 – Variação dos resultados de DBO conforme os tempos de tratamento para 3,0g de biofiltro (massa 3), p. 51

Tabela 11 – Variação dos resultados de DBO conforme os tempos de tratamento para 4,0g de biofiltro (massa 4), p. 52

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ADEs	Âodos dimensionalmente estáveis
BOD	Biochemical oxygen demand
CCM	Célula a combustível microbiana
COD	Chemical oxygen demand
CONAMA	Conselho Nacional de Meio Ambiente
COT	Carbono orgânico total
DBO	Demanda bioquímica de oxigênio
DO	Densidade óptica
DQO	Demanda química de oxigênio
DBO _{5,20}	Demanda bioquímica de oxigênio – 5 dias/20°C
g	Gramas
kgf.cm ⁻²	Quilograma força por centímetro quadrado
L	Litros
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
mgO ₂ L ⁻¹	Miligramas de oxigênio por litro
mS	Mili Siemens
nm	Nanômetros
ηDQO	Eficiência de redução de DQO
rpm	Rotações por minuto
SBBR	Sequencing Batch Biofilm Reactor
UASB	Up-flow Anaerobic Sludge Blanket
UFF	Universidade Federal Fluminense
USA	<i>United States of America</i>
V	Volts

SUMÁRIO

1	<u>INTRODUÇÃO</u>	p. 14
2	<u>OBJETIVOS</u>	p. 16
3	<u>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</u>	p. 17
3.1	EFLUENTE DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL	p. 17
3.2	PROCESSOS DE TRATAMENTO DO EFLUENTE DE BIODIESEL	p. 19
3.3	PROPRIEDADES FÍSICAS DA BUCHA VEGETAL	p. 22
3.4	APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS DA BUCHA VEGETAL NO TRATAMENTO DE EFLUENTES	p. 23
4	<u>MATERIAIS E MÉTODOS</u>	p. 27
4.1	COLETA E CARACTERIZAÇÃO PRÉVIA DO EFLUENTE DE BIODIESEL	p. 27
4.2	PREPARAÇÃO DOS MATERIAIS, DA CEPA BACTERIANA E DO MEIO DE CULTURA	p. 27
4.3	PADRONIZAÇÃO DO INÓCULO MICROBIANO	p. 31
4.4	ESTRUTURAÇÃO DO CONJUNTO DE REATORES	p. 32
4.5	ENSAIOS DE TRATAMENTO BIOLÓGICO	p. 32
4.6	ANÁLISES DE DEMANDA QUÍMICA DE OXIGÊNIO E DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGÊNIO	p. 33
4.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	p. 33
5	<u>RESULTADOS E DISCUSSÕES</u>	p. 35
5.1	DEMANDA QUÍMICA DE OXIGÊNIO	p. 35
5.1.1	Influência do tempo de tratamento na redução de DQO	p. 35
5.1.2	Influência da massa de biofiltro na redução de DQO	p. 41
5.2	DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGÊNIO	p. 48
5.2.1	Influência do tempo de tratamento na redução de DBO	p. 49
5.2.2	Influência da massa de biofiltro na redução de DBO	p. 53
6	<u>CONSIDERAÇÕES FINAIS</u>	p. 57
7	<u>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS</u>	p. 59
8	<u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	p. 60

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, o crescimento da população mundial e os avanços da industrialização estão estreitamente associados ao aumento da poluição dos recursos hídricos, uma vez que o descarte de efluentes e resíduos resultantes de inúmeras atividades humanas promove a deterioração das águas e consequentemente dos ambientes aquáticos, manifestando danos a todas as formas de vida direta e indiretamente dependentes destes recursos (GUPTA; PANDEY; HUSSAIN, 2017).

Por outro lado, muitos processos industriais utilizam energia e água em grandes volumes ao longo das etapas produtivas, aumentando cada vez mais a demanda por este insumo. Uma indústria que consome grande quantidade de água é a indústria de biodiesel, pois ao final do processo, o combustível precisa ser lavado para a redução de impurezas. Esta indústria está em franco crescimento no Brasil e no mundo, devido à demanda emergente pela substituição parcial e estratégica dos combustíveis fósseis por fontes alternativas e renováveis (U.S. Energy Information Administration, 2015; ISHAK; KAMARI, 2019; PEREIRA; BORGES; DA SILVA, 2022).

Neste cenário, em virtude do incremento na fabricação de biodiesel, há um aumento na geração dos resíduos. Um dos resíduos é o efluente de lavagem, cujos parâmetros físico-químicos e microbiológicos (demandas química e bioquímica de oxigênio em especial) se mostram em altas concentrações, sendo significativamente danosos aos recursos hídricos caso não sejam tratados adequadamente antes de serem descartados (LOVATO et al., 2012; MYBURGH et al., 2019). Sendo assim, um dos maiores desafios encontrados no âmbito na produção do biodiesel é o tratamento da água de lavagem, visando sua reutilização ou adequando-a para o descarte (MMA et al., 2015).

Os processos convencionais de tratamento biológico destinados a redução da carga poluidora como a que constitui água de lavagem do biodiesel, geralmente encontram limitações operacionais em virtude de sua composição desfavorável ao crescimento microbiano, decorrente principalmente da alta concentração de partículas sólidas, a qual é responsável por reduzir a eficiência microbiológica na degradação da matéria orgânica (LAIDANI; HANINI; HENINI, 2011; SUKKASEM et al., 2011).

Em contrapartida, os processos biológicos baseados em filme fixo em um substrato têm se mostrado eficazes na eliminação de contaminantes em efluentes sanitários e industriais. A classe de superfície fixa mais comum para formação de biofilme microbiológico em alguns processos de tratamento é composta por material plástico (polímero sintético), contudo, este

material pode ser desvantajoso em termos econômicos e ambientais, em razão do seu alto custo e por se transformarem em resíduos plásticos em algum momento (DANG et al., 2020). Dentre estes sistemas, destacam-se o IFAS (lodos ativados integrados com biofilme fixado) e o MBBR (reatores de leito móvel com biofilme) (MCQUARRIE; BOLTZ, 2011; WAQAS et al., 2020).

Logo, destaca-se a busca de atributos econômicos, de biodegradabilidade e a necessidade de não serem produzidos subprodutos indesejados durante o processo de tratamento. A utilização de materiais naturais de fixação de biofilme, tais como as fibras orgânicas encontradas em espécies de bucha (ou esponja) vegetal, revela potencial para aplicações promissoras relativas ao tratamento de efluentes (LAIDANI; HANINI; HENINI, 2011).

As vantagens proporcionadas pela utilização de fibras de bucha vegetal como tecnologia de tratamento de efluentes industriais, principalmente em razão de sua origem natural, mas também por aspectos econômicos, natureza não tóxica e biodegradabilidade as tornam atrativas para pesquisas científicas e desenvolvimento de novas técnicas associadas ao tratamento de efluentes (HENINI et al., 2012a).

Apesar do potencial de aplicação tecnológica, ainda não foram encontradas na literatura pesquisas que abordassem a eficiência de buchas vegetais no tratamento das águas residuais da indústria de biodiesel (ANASTOPOULOS; PASHALIDIS, 2020; DA ROCHA et al., 2010; DE SOUSA et al., 2008; VIANNA; DE MELO, 2019).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a eficiência da utilização de um biofiltro de origem vegetal (*Luffa cylindrica* ou *Luffa aegyptiaca*) inoculado com bactéria da espécie *Shewanella amazonensis* no tratamento do efluente de lavagem de uma indústria produtora de biodiesel.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a eficiência do tratamento a partir da execução de análises de DBO e DQO antes e após os ensaios propostos;
- Avaliar o comportamento do tratamento do efluente de acordo com a variação de massas de bucha e tempos de tratamento.

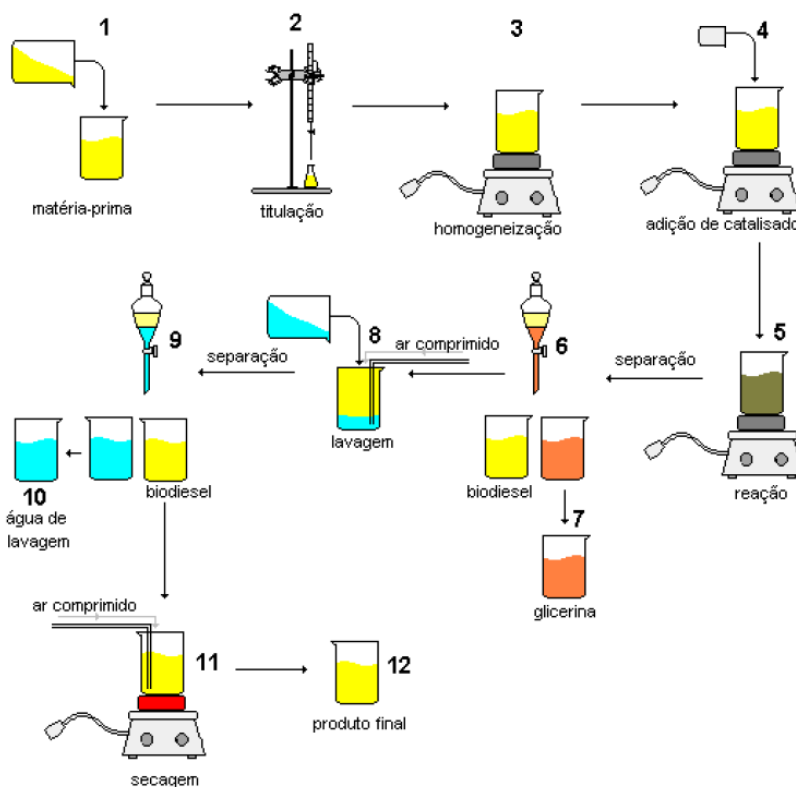
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 EFLUENTE DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL

O biodiesel é fabricado por meio da reação de transesterificação, decorrente do processo químico entre uma matéria-prima (óleos vegetais ou gorduras animais) e um álcool sob a ação de um catalisador com caráter ácido ou básico. Os produtos desta reação se definem basicamente como um éster monoalquílico, também denominado biodiesel, e glicerina (HAAS; BLOOMER; SCOTT, 2000).

Quando a reação de transesterificação ocorre em meio ácido, a matéria-prima utilizada geralmente dispõe de alto conteúdo de ácidos graxos, caracterizando uma baixa qualidade da substância. Por outro lado, a rota alcalina (catalisador hidróxido de sódio ou de potássio) é determinada pela melhor qualidade da matéria-prima a ser transformada, sendo uma via química mais tradicional por gerar combustíveis mais puros (DE BONI et al., 2007). A Figura 1 exibe um esquema representativo do processo produtivo laboratorial de biodiesel via rota alcalina.

Figura 1 – Organograma básico da produção de biodiesel por via alcalina.



Fonte: de Boni et al., 2007.

Os processos produtivos industriais do biodiesel possuem a característica de gerar grandes volumes de efluente na etapa de lavagem (fase 10 – Figura 1), que por sua vez pode se repetir de acordo com o grau de impurezas e contaminantes presentes no biocombustível, isto é, subprodutos inerentes das reações de transesterificação. Para purificar o biodiesel destes elementos indesejáveis e garantir um produto de alta qualidade que alcance padrões internacionais, são gerados em média, entre 20 e 120 litros de efluente de lavagem para cada 100 litros de biodiesel produzidos (CHAVALPARIT; ONGWANDEE, 2009; NGAMLERDPOKIN et al., 2011; PALOMINO-ROMERO et al., 2012; SRIRANGSAN; ONGWANDEE; CHAVALPARIT, 2009; SUEHARA et al., 2005). Além do mais, a importância do processo de purificação também está associada à performance da combustão em motores movidos a este tipo de combustível (ATADASHI et al., 2011).

O efluente da produção de biodiesel é conhecido por sua viscosidade e coloração opaca e esbranquiçada, o que caracteriza, devido à sua composição química, um ambiente hostil para o crescimento de microrganismos, dificultando os processos de degradação biológica natural (JARUWAT; KONGJAO; HUNSOM, 2010; KOLESÁROVÁ et al., 2011).

Quanto à caracterização do efluente da produção do biodiesel (também chamado de água de lavagem), na literatura são encontrados resultados analíticos variados de DQO e DBO, como consta na Tabela 1. É importante salientar que os valores contidos na Tabela 1 se referem ao efluente bruto, isto é, desprovido de qualquer tratamento.

Os efluentes originados nos processos de fabricação de biodiesel são usualmente direcionados para estações de tratamento compostas por tratamento físico-químico na maioria dos casos, e em alguns, tratamento biológico. Dentre os estágios do tratamento físico-químico, pode-se destacar os procedimentos de filtração, coagulação, floculação, acidificação, entre outros. Usualmente, quando há a presença do tratamento biológico, este ocorre após o tratamento físico-químico. Na maioria das situações é utilizada a tecnologia de lodos ativados, em razão da alta carga orgânica dos efluentes, a qual pode ser reduzida significativamente pelos microrganismos (SRIRANGSAN; ONGWANDEE; CHAVALPARIT, 2009).

Tabela 1 – Diferentes caracterizações do efluente de lavagem do processo produtivo e biodiesel, conforme cada tipo de matéria-prima.

Autores	Matérias-primas	DQO (mg O₂ L⁻¹)	DBO (mg O₂ L⁻¹)
(MOZAFFARIKHAH et al., 2017)	óleo de cozinha e metanol	19.980	18.335
(SASSI et al., 2017)	*	3.051,5	*
(SHIRAZI et al., 2013)	*	445	170
(BORRALHO; PARDAL; COELHO, 2019)	*	667	*
(MYBURGH et al., 2019)	*	55.000 – 65.000	38.000 – 40.000
(DE BONI et al., 2007)	óleo de fritura usado	16.564	*
(NGAMLERDPOKIN et al., 2011)	óleo vegetal usado	312.000 – 588.800	168.000 – 300.000
(TANATTI; ŞENGİL; ÖZDEMİR, 2018)	*	399.800	*

* não informado pelo(s) autor(es).

No entanto, torna-se complexa a seleção do melhor processo de tratamento, principalmente em virtude da alta variabilidade das propriedades de cada efluente, condicionadas pelas diferentes fontes de geração e composições químicas (NGAMLERDPOKIN et al., 2011).

3.2 PROCESSOS DE TRATAMENTO DO EFLUENTE DE BIODIESEL

Em razão dos atributos contaminantes das águas residuárias resultantes do processo produtivo de biodiesel, oriundos principalmente de sua composição química complexa, basicamente formada por sabões que contém sódio ou potássio, glicerina, ácidos graxos, álcoois, entre outros, diversas tecnologias para o tratamento deste efluente foram sendo desenvolvidas, cada uma com sua peculiaridade. Dentre elas, destacam-se os tratamentos biológicos, combinados, físico-químicos, eletroquímicos e de filtração por membranas (MOZAFFARIKHAH et al., 2017; PALOMINO-ROMERO et al., 2012).

No tocante aos tratamentos biológicos do efluente de biodiesel, suas vantagens compreendem a simplicidade e adequação dos sistemas em pequena escala, os baixos custos e a versatilidade das configurações dos processos em áreas menores. Porém, as desvantagens desta categoria de tratamento devem ser consideradas, uma vez que são traduzidas na demanda de tempo necessária para atingir condições ótimas de operação e na geração de grandes quantidades de lodo pouco denso com baixa eficiência de degradação (DAUD et al., 2015).

Os processos biológicos para tratamento de efluentes são baseados em dois tipos de mecanismos de funcionamento: as tecnologias de crescimento suspenso, isto é, os microrganismos se desenvolvem em suspensão líquida no efluente a ser tratado; e as de crescimento fixo, também chamados de processos de biofilme fixo, nos quais os microrganismos se aderem a uma superfície sólida e se reproduzem formando uma camada biológica sobre o substrato, constituída basicamente por células e substâncias poliméricas extracelulares (ALMOMANI; ÖRMECI; KIELY, 2019; GARRETT; BHAKOO; ZHANG, 2008).

Nesta perspectiva, em se tratando de tecnologias de tratamento biológico com filme fixo, a escolha do material suporte para o crescimento dos biofilmes interfere diretamente na performance dos reatores em termos de eficiência de tratamento (NGUYEN et al., 2010).

É fundamental destacar que os processos biológicos com filme fixo se mostram altamente eficazes no tratamento de águas residuárias em virtude principalmente da alta densidade microbiológica das comunidades desenvolvidas sobre os substratos sólidos e da oferta de grandes áreas superficiais disponíveis para crescimento dos microrganismos. Dentre as características principais dos meios físicos responsáveis pela aderência dos biofilmes, o tipo, formato e tamanho desempenham um papel primordial na estrutura e eficiência dos processos de tratamento baseados em biofilmes fixos (ALMOMANI; ÖRMECI; KIELY, 2019; KERMANI et al., 2008).

Dentro da categoria dos processos de crescimento microbiano fixo, os filtros biológicos são definidos como tecnologias para tratamento de efluentes recomendadas devido ao seu princípio de funcionamento, isto é, a colonização de microrganismos nas superfícies de meios físicos inertes, assegurando maiores amontoados de biomassa (biofilme) sobre os substratos envolvidos. O material plástico empregado como substrato para crescimento nestes casos possui desvantagens operacionais, especialmente por não dispor de grande capacidade de aderência microbiana. Ademais, outras características são requisitadas na escolha do material constituinte dos filtros como baixa massa, alta superfície específica, resistência à abrasão, comportamento inerte e biodegradabilidade. Neste cenário, a bucha vegetal vem sendo estudada para diversas funcionalidades tecnológicas (TAVARES et al., 2009).

Uma pesquisa foi realizada com objetivo de comparar as eficiências de redução de DQO, nitrogênio total e fósforo total de um efluente sintético por meio de dois sistemas de tratamento biológico formados por reatores com membrana. Um dos sistemas trabalhou com o crescimento microbiano em suspensão e o outro com crescimento em biofilme fixo, no qual foi investigada a influência de suportes suspensos formados por esponjas de poliuretano como substrato. Foi

possível observar ambos os sistemas alcançaram altas eficiências de redução de DQO (98%), porém o reator com funcionamento por filme fixo demonstrou uma eficiência significativamente superior ao com crescimento em suspensão em termos de redução nitrogênio e fósforo totais. O primeiro atingiu eficiências de 89 e 58%, enquanto foram performados 74 e 38% na remoção de nitrogênio total e fósforo total no segundo sistema, respectivamente (JAMAL KHAN et al., 2011).

Outro estudo envolvendo efluente sintético abordou a eficiência de um reator de biofilme com leito móvel alimentado com diferentes taxas de nitrogênio e fósforo, na redução da concentração de DQO solúvel e de nutrientes em condições anaeróbicas, anóxicas e aeróbicas. Sob condições ótimas, a redução de DQO solúvel, nitrogênio total e fósforo atingida pelo sistema foi de 96,9, 84,6 e 95,8% de eficiência, respectivamente, demonstrando que o reator de biofilme com leito móvel é uma alternativa ideal e eficiente para o tratamento de efluentes municipais (KERMANI et al., 2008).

Para o tratamento do efluente de lavagem da produção do biodiesel, um experimento foi conduzido a partir do processo de lodos ativados, no qual foram coletados 1,5 L de lodo de uma planta de tratamento local e introduzidos como inóculo em um reator com 4,5 L de volume de operação e alimentado com nutrientes. Foi obtida a eficiência de 90% a redução de DQO durante 13 dias de operação (RAMÍREZ et al., 2012).

Em relação aos tratamentos eletroquímicos, uma pesquisa demonstrou um processo Fenton de tratamento do efluente de lavagem do biodiesel em reator eletroquímico com filtro de leito fixo. Foram aplicadas tensões elétricas diferentes em tempos de exposição também distintos para avaliação dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos. Destacou-se o tratamento referente a 7,5 V de tensão durante 10 minutos, no qual foram obtidas eficiências significativas de redução de DQO (65,19%), 99,96% de redução da turbidez, 30,88% de óleos e graxas e 60,37% de $\text{DBO}_{5,20}$. Estas performances de tratamento do efluente de biodiesel foram capazes de adequar os parâmetros analisados conforme as preconizações da Resolução CONAMA nº 430/2011 (BORGES CORDEIRO et al., 2015).

Outro exemplo de investigação do tratamento eletroquímico se deu pela avaliação de diversos ânodos dimensionalmente estáveis (ADEs) em diferentes densidades de corrente elétrica no desempenho de redução de carbono orgânico total (COT) de um efluente de lavagem de biodiesel produzido com sebo bovino como matéria-prima. Foi observado que a eficiência do processo de redução de COT era diretamente proporcional ao aumento de densidade de corrente, não obstante ao material eletrocatalítico analisado. O melhor desempenho obtido foi de 96,7% de redução de COT (SANTOS et al., 2015).

Uma pesquisa inovadora utilizou flocos de quitosana para tratar o efluente de biodiesel por meio de adsorção controlada, a partir da variação de tempo, taxa de mistura, dose de adsorvente e pH inicial do efluente. A realização de uma batelada do processo foi capaz de atingir níveis satisfatórios de redução de DQO, DBO e óleos e graxas, mas não foi suficiente para atender os padrões legais locais. Após a repetição do tratamento, as eficiências de redução de DQO, DBO e óleos e graxas alcançaram 97,6%, 93,6% e 95,8% de desempenho, respectivamente (PITAKPOOLSIL; HUNSOM, 2014).

Estudos mais remotos acerca dos processos produtivos do biodiesel priorizavam a fabricação do combustível sem levar em conta os aspectos ambientais e relativos ao tratamento dos resíduos gerados. Embora sejam encontrados desafios no campo do tratamento dos efluentes desta natureza, isto têm servido de incentivo para pesquisadores desenvolverem tecnologias de tratamento mais otimizadas e eficazes em termos de simplicidade e custo operacionais (SRIRANGSAN; ONGWANDEE; CHAVALPARIT, 2009).

A comparação entre os diversos modelos de tratamento como os mostrados anteriormente, permite concluir que os estudos científicos motivados pela promoção de vias mais eficientes e econômicas de redução dos impactos gerados pela geração destas águas residuárias apontam processos altamente promissores.

3.3 PROPRIEDADES FÍSICAS DA BUCHA VEGETAL

A bucha vegetal pertencente à família das cucurbitáceas, tem origem em um fruto fibroso de haste única e volumosa, com sementes pretas no interior, totalmente desenvolvido de uma planta herbácea tropical, cuja folhagem característica se estende ao longo de um caule oco e maleável (DANG et al., 2020; ONIYA; BAMGBOYE, 2016).

Testes em laboratório têm sido realizados para modificar as propriedades da bucha vegetal e torná-las ainda mais eficazes como soluções tecnológicas. Para aumentar a durabilidade das fibras em soluções aquosas, uma pesquisa promoveu a submersão do material em anidrido acético para elevar a capacidade de imobilização de microrganismos produtores de celulase (HIDENO et al., 2007). Partindo-se da mesma finalidade, outro estudo mostrou o comportamento da bucha vegetal mergulhada em solução de Ca(OH)_2 em um reator de pequena escala montado em laboratório, com o objetivo de elevar a durabilidade das fibras para até 10 dias de experimentação (DO et al., 2016 apud DANG et al., 2020). A utilização da solução alcalina para modificar as propriedades da bucha foi reportada com o propósito de diminuir a

lixiviação de elementos naturalmente presentes nas fibras, tais como lignina, ceras, hemicelulose e impurezas (PANNEERDHASS; GNANAVELBABU; RAJKUMAR, 2014).

Henini et al. (2012) identificaram por meio da técnica de microscopia óptica algumas propriedades estruturais das fibras da esponja vegetal da espécie *Luffa cylindrica* para fins de tratamento de efluentes industriais, utilizando a capacidade de adsorção dos poluentes e contaminantes. Os principais parâmetros caracterizados foram o formato cilíndrico das fibras com comprimento médio de 100 μm , o diâmetro médio da seção circular das fibras entre 8 e 30 μm , taxa de retorno de 7% e mudança de coloração para amarelo em altas temperaturas. Além disso, a técnica de espectroscopia vibracional na região do infravermelho indicou bandas na faixa de frequência entre 2800 e 3500 cm^{-1} , associadas a grupos hidroxila e picos na faixa entre 1450 e 1600 cm^{-1} , atribuídos a alcenos.

3.4 APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS DA BUCHA VEGETAL NO TRATAMENTO DE EFLUENTES

Uma das desvantagens de materiais naturais como a bucha vegetal se dá justamente pela sua menor durabilidade em comparação aos artificiais, visto que são degradáveis biologicamente. Em meios agressivos à integridade estrutural da bucha vegetal, como em efluentes sanitários, a viabilidade de sistemas de tratamento pode ser comprometida (FERNANDES et al., 2015).

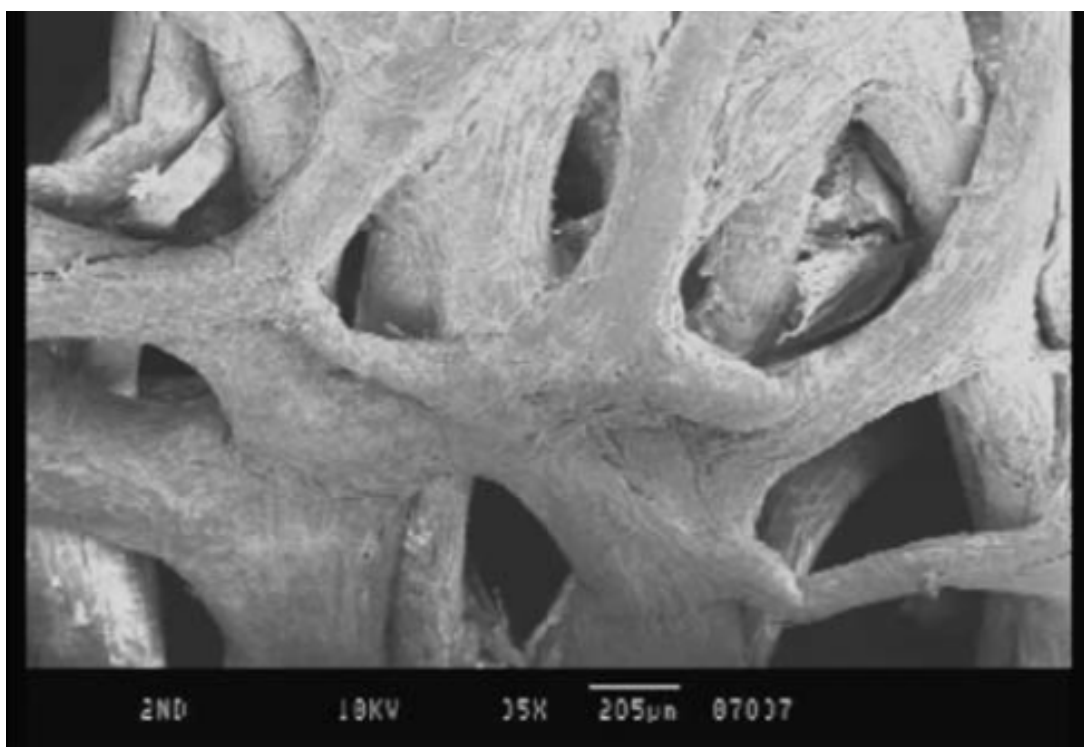
Um processo que pode aperfeiçoar as características de biofilmes sobre as superfícies das fibras de bucha vegetal é o tratamento químico conhecido como acetilação, no qual uma pesquisa demonstrou, por meio das técnicas de espectroscopia na região do infravermelho e microscopia eletrônica de varredura, a redução do caráter polar das moléculas de celulose do material, sendo capaz de elevar a quantidade de área de contato disponível para aderência de elementos externos em virtude da exposição de sua estrutura fibrilar (D'ALMEIDA et al., 2005).

Nesta perspectiva, o processo de acetilação ainda possui outras finalidades biotecnológicas, tais como a proteção da estrutura fibrosa da bucha contra a ação da celulase, enzima produzida por alguns microrganismos e com potencial de degradação de sua composição química. Sob estas condições, as fibras ainda servem como suporte de imobilização de microrganismos em bioprocessos que envolvam celulase (HIDENO et al., 2007).

Yang et al. (2004) avaliaram diferentes materiais quanto à produção de metano em reatores de leito fluidizado, alimentado somente com ácido acético. O estudo identificou que a

escolha do material a ser utilizado pode ser determinante na eficiência do processo, oferecendo condições específicas para o desenvolvimento de diversos tipos de microrganismos. A bucha vegetal, o único orgânico dentre os materiais, revelou o melhor rendimento na digestão anaeróbica para geração de metano. Ademais, foi constatado que a maior diversidade de morfologias celulares foi observada nas colonizações em bucha vegetal, as quais ocorreram predominantemente por cocos metanogênicos. A técnica de microscopia eletrônica de varredura permitiu verificar a alta porosidade e rigidez das fibras de bucha vegetal, como mostrado na Figura 2.

Figura 2 – Imagem capturada da bucha vegetal, por meio de MEV.



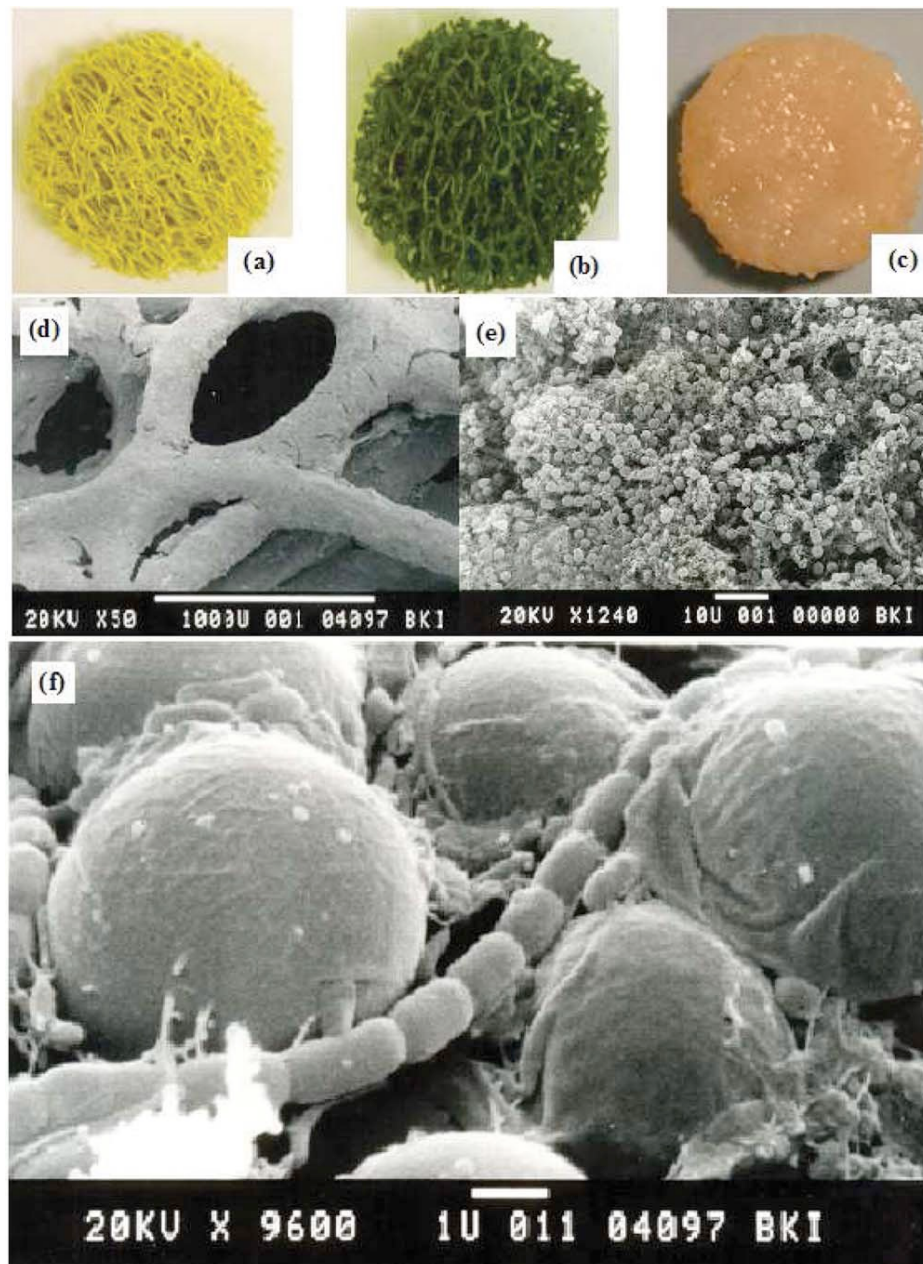
Fonte: Adaptado de Yang et al., 2004.

Um estudo investigou a capacidade de redução de DQO e $\text{DBO}_{5,20}$ de um efluente sanitário em três conjuntos de filtros anaeróbios com diferentes meios suportes. Dentre eles, um filtro anaeróbico foi preenchido com o fruto seco da bucha vegetal para determinar sua eficiência de tratamento quanto aos parâmetros citados, e compará-los a materiais tradicionais utilizados como meios suporte. Foi concluído que o meio composto pela bucha se caracterizou como alternativa para desenvolvimento microbiano em filtros anaeróbicos, devido à semelhança estatística entre as performances de tratamento entre os materiais analisados (FERNANDES et al., 2015).

Dois estudos inovadores buscaram avaliar a performance de tecnologias emergentes como as células a combustível microbianas (CCMs), as quais aliam o tratamento de efluentes e a geração de energia elétrica. No primeiro foram combinados a bucha vegetal e placas de grafite como substrato para crescimento do biofilme microbiano (THAKUR; DAS, 2021), no segundo a superfície da bucha vegetal foi funcionalizada por meio de um processo de polimerização seguido de carbonização (YUAN et al., 2013). Em estratégias que utilizam CCMs, é essencial empregar um inóculo bacteriano com propriedades eletrogênicas, isto é, capaz de transferir os elétrons do metabolismo do interior da célula para uma superfície externa que seja condutora, capaz de conduzi-los em um circuito gerar corrente elétrica.

A bucha vegetal vem sendo estudada e utilizada como matriz para a imobilização de células microbianas, em razão de sua estrutura fibrovascular formada por uma rede de fibras aleatórias acopladas entre si com uma alta porosidade (entre 79 e 93%), baixa densidade (entre 0,02 e 0,04 g/cm³) e alto volume específico dos poros (entre 21 e 29 cm³/g). A aderência de células característica da bucha tem potencial para formação de biofilmes de diversas naturezas, como microalgas, fungos, bactérias, leveduras, entre outros. Dessa forma, a bucha está sendo utilizada para o desenvolvimento de biofilmes capazes de serem aplicados eficientemente no tratamento de efluentes industriais e domésticos ricos em substâncias orgânicas e inorgânicas, além da remediação de águas residuárias contendo corantes, metais tóxicos e compostos clorados. A Figura 3 exibe imagens macroscópicas de discos de bucha vegetal cobertos por diferentes microrganismos, e microscopias eletrônicas que mostram as características microscópicas dos biofilmes (SAEED; IQBAL, 2013).

Figura 3 – Discos de bucha vegetal natural (a), cobertos por alga unicelular *Chlorella sorokiniana* (b), hifas do fungo *P. chrysosporium* (c); e microscopias eletrônicas de fibras reticuladas cobertas por biofilme imobilizado de *C. sorokiniana* (d), alta resolução do anterior (e) e consórcio de algas unicelulares e filamentosas (f).



Fonte: Saeed; Iqbal, 2013.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 COLETA E CARACTERIZAÇÃO PRÉVIA DO EFLUENTE DE BIODIESEL

O substrato utilizado nas atividades experimentais, isto é, o efluente do processo produtivo de biodiesel, foi coletado junto a uma Estação de Tratamento de Efluentes (ETE) de uma indústria no município de Pinheiral/RJ.

O planejamento dos experimentos mostrou que cerca de 10 litros do efluente em questão seriam suficientes para a realização completa do trabalho. A coleta deste volume precedeu à caracterização prévia do efluente envolvendo as análises de DBO, DQO, pH e condutividade, como exhibe a Tabela 2.

Tabela 2 – Parâmetros de avaliação do efluente de biodiesel bruto.

Parâmetro	Resultado
pH	6,93
Condutividade	8,21 mS cm ⁻¹
DQO	161.812,83 ± 14.241,34 mgO ₂ L ⁻¹
DBO	58.023,50 ± 7.708,9 mgO ₂ L ⁻¹

Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

As amostras utilizadas nos ensaios não passaram por nenhum tipo de tratamento (efluente bruto). Para preservar as amostras coletadas, foram utilizados frascos de plástico acondicionados em refrigerador a aproximadamente 4° C.

Posteriormente, a caracterização prévia do efluente *in natura* foi precedida da preservação em frascos de plástico de 5 L em refrigeração (4 °C). Após, foram analisadas a DBO e DQO do mesmo, segundo as especificações técnicas dos métodos 5210B (5-Day BOD Test) e 5220C (*Closed Reflux, Titrimetric Method*), descritas na mesma fonte.

4.2 PREPARAÇÃO DOS MATERIAIS, DA CEPA BACTERIANA E DO MEIO DE CULTURA

A preparação dos materiais que permitiu a realização do experimento foi iniciada com a seleção das massas de bucha vegetal. A partir do corte das buchas vegetais com a utilização de uma tesoura, foi utilizada uma balança analítica (Mettler Toledo, modelo XS105) para a realização dos ensaios de determinação das quatro massas de fibra vegetal a serem inseridas

nos reatores. Devido à alta variabilidade da disposição espacial das fibras nas buchas adquiridas, considerou-se uma variação de $\pm 0,1$ g para a confecção das mesmas. Dessa forma, foram definidos os valores:

- $m_1 = 1,0 \pm 0,1$ g;
- $m_2 = 2,0 \pm 0,1$ g;
- $m_3 = 3,0 \pm 0,1$ g;
- $m_4 = 4,0 \pm 0,1$ g.

Após a estruturação das buchas segundo as massas estipuladas, foi necessário torná-las estéreis com a finalidade de descontaminar as fibras, extinguindo os potenciais microrganismos existentes nas superfícies do material, os quais poderiam prejudicar o tratamento pretendido, que por sua vez utilizou uma cepa de bactéria isolada (*Shewanella amazonensis* – ATCC® 700329TM), obtida do *American Type Culture Collection* (ATCC, Manassas, Virginia, USA). Esta espécie microbiana foi escolhida para inoculação e crescimento de biofilme sobre as superfícies fibrosas da bucha em razão dos seus atributos eletrogênicos, o que conferem o potencial para realização de estudos futuros envolvendo células a combustível microbianas e outras tecnologias bioeletroquímicas. A esterilização das fibras vegetais ocorreu com a utilização de uma autoclave vertical (CS da marca Prismatec).

Além disso, o efluente coletado também dispõe de alta probabilidade de possuir microrganismos endógenos, isto é, agentes microbianos naturalmente colonizados no resíduo líquido. Contudo, não foi realizada a esterilização do efluente, para não comprometer as características do mesmo. Os volumes de efluente utilizados em cada batelada foram transferidos para erlenmeyers de 500 mL e os biofiltros foram colocados nos próprios erlenmeyers que formam os reatores.

Os materiais, com exceção do efluente, foram esterilizados a uma temperatura de 121 °C e pressão de 1,1 kgf cm⁻² durante 15 minutos. A Figura 4 mostra uma das remessas de reatores preparados para esterilização em autoclave.

Figura 4 – Conjunto de reatores identificados pela massa de biofiltro, prontos para esterilização.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

Para a multiplicação da cepa bacteriana de *Shewanella amazonensis*, foi realizada repicagem em meio de cultura líquido Luria Bertani (LB). Inicialmente, este processo foi executado em erlenmeyers de 250 mL, nos quais foram adicionados 100 mL de água destilada, além da adição dos nutrientes: 1,0 g de triptona, 0,5 g de extrato de levedura, 1,0 g de cloreto de sódio e uma suplementação de 1,0 g de glicose.

As soluções de meio de cultura também foram esterilizadas em autoclave a 121 °C e 1,1 kgf cm⁻² durante 15 minutos para redução de potenciais contaminações. Após, os frascos foram levados a uma cabine de segurança biológica para inoculação, onde foram adicionados 3 mL das cepas estoque aos meios de cultura recém-constituídos. Os erlenmeyers inoculados foram transportados a uma incubadora *shaker* refrigerada (NOVATECNICA) ajustada a uma temperatura de 37 °C e 150 rpm de agitação, durante 24 horas. Os frascos repicados foram preservados a uma temperatura média de 4 °C em refrigerador no laboratório de Eletroquímica e Energia da Escola de Engenharia Industrial Metalúrgica da Universidade Federal Fluminense (UFF), em Volta Redonda.

Com os propósitos de otimizar o crescimento bacteriano na maior quantidade de área disponível de fibras vegetais, aumentar a afinidade entre os indivíduos microbianos com a superfície de contato, elevar a densidade microbiológica e consequentemente incrementar o desenvolvimento do biofilme, os biofiltros foram incorporados com os meios de cultura do tipo Ágar Luria Bertani, isto é, um meio de cultivo igual ao anterior, porém no estado sólido. Para abranger as 16 peças de biofiltro de cada remessa de tratamento na incorporação do meio de

cultura, foram adicionados 600 mL de água destilada em um béquer de 1 L, juntamente com os nutrientes listados na Tabela 3.

Tabela 3 – Meio de cultura Ágar Luria Bertani utilizado na funcionalização do biofiltro.

Nutrientes	Quantidade (g)
Ágar bacteriológico (<i>American Type</i>) No. 1	9
Tryptona	6
Extrato de Levedura	3
Cloreto de Sódio	6
Glicose (suplemento nutritivo)	6

Os béqueres foram então alocados em uma placa de aquecimento a 345 °C com agitação magnética para completa dissolução do conteúdo adicionado. Pode-se visualizar na Figura 5 o processo de incorporação do Ágar Luria Bertani nas peças de biofiltro.

Figura 5 – Procedimento de submersão dos biofiltros no meio de cultura Ágar Luria Bertani.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2022.

Junto à cabine de segurança biológica, as massas de bucha elaboradas e esterilizadas foram mergulhadas nos meios de cultura ainda em estado líquido (recém esterilizado), para incorporação nas fibras vegetais. Esta fase contou com testes de tempo de aderência do meio nas superfícies das buchas, em razão da rápida solidificação do meio a temperatura ambiente. Este procedimento foi padronizado em todos os ensaios. Tais medições de tempo foram necessárias pelo motivo de o meio de cultura se solidificar rapidamente entre as fibras, podendo tapar os espaços vazios entre elas, e criando preenchimentos indesejáveis. Assim, foi determinado que o tempo satisfatório de solidificação do meio de cultura Ágar Luria Bertani nas fibras dos biofiltros foi de 5 minutos.

4.3 PADRONIZAÇÃO DO INÓCULO MICROBIANO

A padronização do inóculo dos microrganismos a serem usados nos ensaios de tratamento é um processo fundamental para a realização das experimentações subsequentes pois as variáveis principais analisadas (massas de bucha em função dos tempos de tratamento) exigem a equalização da quantidade de células de *S. amazonensis* em todos os ensaios de tratamento, com o objetivo de fixar, aproximadamente, o número de bactérias no início do crescimento do biofilme sobre as superfícies das fibras vegetais.

Este procedimento é imprescindível porque a concentração de bactérias encontrada na cepa de estoque é altamente variável no tempo, mesmo após a homogeneização do frasco, devido às oscilações das fases da curva de crescimento bacteriano. Portanto, não efetuar a padronização do inóculo poderia ocasionar crescimentos de biofilme aleatórios no período anterior aos ensaios de tratamento, comprometendo os resultados das análises das variáveis propostas.

A escala nefelométrica de McFarland consiste em uma metodologia de contagem microbiológica capaz de estimar a quantidade de células em suspensão contidas em um meio líquido, com base na correlação entre padrões de turbidez e a concentração de microrganismos existentes em uma população (MCFARLAND, 1907).

Para tal, em todos os ensaios de tratamento foram coletadas alíquotas de 3 mL de *S. amazonensis* armazenada em pré cultivo líquido para medição da absorbância em espectrofotômetro UV-vis da marca Shimadzu (modelo UV-1800), ajustado para um comprimento de onda de 600 nm. O procedimento foi realizado em uma cabine de segurança biológica. Como as leituras de absorbância das alíquotas *in natura* ultrapassaram o intervalo

ótimo de detecção do equipamento, foram realizadas diluições conforme os valores aferidos a fim de adequar os resultados na faixa de absorbância confiável.

Após a determinação da absorbância real da cepa no momento das medições, foi necessário adequá-la a um valor fixo recomendado de densidade óptica de 0,1 DO₆₀₀, no qual estima-se que haja uma quantidade homogênea de células ativas (MCFARLAND, 1907). Esta densidade óptica foi aplicada a volumes de 50 mL em todos os ensaios de tratamento, distribuídos nos reatores para crescimento do biofilme sobre as superfícies do biofiltro incorporado com ágar nutriente. Assim, foi possível uniformizar a concentração de bactérias em todos os ensaios.

4.4 ESTRUTURAÇÃO DO CONJUNTO DE REATORES

Os reatores responsáveis pelo tratamento do efluente utilizado foram montados em béqueres de 150 mL. Os reatores foram reunidos em conjuntos de quatro, em adequação ao equipamento de medição de DBO, capaz de comportar até seis amostras simultaneamente.

A cada mudança de grupo de reatores (variação de massa de biofiltro), eram colocadas nas vidrarias as massas de bucha incorporadas no meio de cultivo, substrato para tratamento (efluente) e inóculo de bactérias.

Durante os períodos de tratamento, os reatores foram posicionados nos suportes de uma incubadora *shaker* para promover a mistura da solução e aumentar a taxa de contato entre o efluente e as superfícies das fibras. Os reatores foram vedados com papel alumínio para reduzir o contato com o ar externo. O tratamento foi realizado a temperatura de 37°C, regulada no equipamento.

4.5 ENSAIOS DE TRATAMENTO BIOLÓGICO

Com a preparação dos reatores finalizada, os ensaios de tratamento foram sucedidos com base no regime de batelada, sendo seguidos quatro conjuntos principais de testes, diferenciados pelo período de tratamento em que os reatores foram submetidos (6h, 12h e 24h). Cada conjunto de quatro reatores foi agrupado segundo a mesma massa de biofiltro (1,0; 2,0; 3,0 e 4,0g). A quantidade de variações de massa se deu pela realização dos ensaios em triplicata e uma amostra de controle, isto é, isenta de inóculo microbiano de *S. amazonensis*.

Portanto, o agrupamento de amostras analisadas e suas repetições totalizaram 76 (setenta e seis) análises de DBO e DQO, sendo dezesseis dados por período de tratamento (6h

sem crescimento prévio de biofilme, 6 h, 12 h e 24 h) e doze controles (brancos). Em razão de as análises de DBO necessitarem de incubação durante 5 dias a 20 °C, de acordo com o método utilizado, cada massa de biofiltro foi avaliada a cada 5 dias.

É importante destacar que a degradação anaeróbica, presente em partes nos experimentos, possui a característica de produzir biomassa metabólica (lodo). Na pesquisa vigente, as massas de bucha foram posicionadas a uma certa distância do fundo dos reatores, para impedir o contato das fibras com o lodo após a decantação.

4.6 ANÁLISES DE DEMANDA QUÍMICA DE OXIGÊNIO E DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGÊNIO

Basicamente, as análises que direcionaram o objetivo principal do trabalho foram as de DQO e a DBO, em virtude de se caracterizarem como uns dos principais parâmetros de avaliação do tratamento de águas residuárias e capazes de determinar a eficiência do processo de degradação da matéria orgânica e outros compostos oxidáveis, em vias químicas (DQO) e bioquímicas (DBO).

Do mesmo modo empregado na caracterização prévia, as análises de DBO e DQO, realizadas em cada reator ao final dos períodos de tratamento seguiram as metodologias 5210B (5-Day BOD Test) e 5220C (*Closed Reflux, Titrimetric Method*) do *Standard Methods for analysis for water and wastewater* (SMWW), respectivamente (APHA, 2012).

As análises de Demanda Bioquímica de Oxigênio, também designada como $DBO_{5,20}$, foram executadas de dois modos: um por meio da utilização do equipamento de medição com pressão manométrica de DBO, conhecido como “RESPIROMETRIC Sensor System 6 – BOD”, (Velp Científica), no qual os conjunto de garrafas e sensores foram colocados em estufa com temperatura controlada (20 °C) e agitação contínua; o outro consistiu na utilização de garrafas de DBO (*BOD bottles*) em estufa com temperatura controlada (20 °C), medição inicial e final de oxigênio dissolvido (depleção de oxigênio) e ausência de luz.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas da pesquisa foram realizadas com o auxílio do *software* SISVAR® (FERREIRA, 2011). Primeiramente, foi executada a verificação da existência de distribuição normal dos dados de DQO e DBO por meio do teste de Shapiro-Wilk. A detecção da normalidade dos dados é necessária para permitir a realização da avaliação estatística dos

valores finais de DQO e/ou DBO ($\text{mgO}_2 \text{ L}^{-1}$), executadas por meio da inserção dos resultados analíticos relativos a cada massa de biofiltro em função dos tempos de tratamento no programa, com a finalidade de verificar o nível de significância das fontes de variação quanto às concentrações de oxigênio necessárias para degradar as moléculas oxidáveis. Nestes cenários, foi executada a análise de variância e quando significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância

O delineamento experimental estatístico do trabalho é o inteiramente casualizado, ou seja, os reatores de tratamento não foram agrupados segundo grupos de controle específicos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 DEMANDA QUÍMICA DE OXIGÊNIO

5.1.1 Influência do tempo de tratamento na redução de DQO

A influência dos períodos de tratamento na diminuição das concentrações de DQO foi analisada com o objetivo de verificar os efeitos da duração do tratamento nos reatores submetidos a temperatura de 37°C, agitação de 150 rpm e quantidade fixa de microrganismos inoculados. Como mencionado, os ensaios de tratamento quanto à DQO foram realizados em triplicata para reduzir a probabilidade de erros quantitativos.

O teste de normalidade de Shapiro-Wilk foi aplicado para os resultados de DQO final para verificar se os mesmos se enquadrariam na distribuição normal estatística. Foi possível observar que este conjunto de dados possui normalidade estatística. Portanto, foram realizados os procedimentos de análise de variância e teste de médias de Tukey ao nível de 5% de significância, para as variáveis massas de biofiltro, tempos de tratamento e sua interação.

É válido mencionar que o coeficiente de variação é um parâmetro definido como uma medida da variabilidade e precisão de um conjunto de dados, sendo calculado a partir da razão entre o desvio padrão e a média. É fundamental quando se pretende analisar dados quantitativos com diferentes médias e unidades de medida (KÖYMEN KESER; DEVECİ KOCAKOÇ; ŞEHİRLİOĞLU, 2016; TRAFIMOW, 2014).

Coefficientes de variação considerados baixos se encontram inferiores a 10%. Quando estão entre 10 e 20% são considerados médios e entre 20 e 30%, altos. Além do mais, acima de 30%, o parâmetro é considerado muito alto (PIMENTEL-GOMES; COUTO, 1985). No entanto, é necessário lembrar que esta classificação é genérica para conjuntos de dados de diversas naturezas. Sendo assim, dados coletados em experimentações específicas e com características particulares podem apresentar coeficientes de variação altos de maneira habitual sem deslegitimar a credibilidade dos dados.

A análise de variância (ANOVA) e aplicação do teste de Tukey ao nível de 5% de significância mostraram que, em relação às médias dos resultados de DQO de cada massa de biofiltro, somente a variável tempo provocou diferença estatisticamente significativa sobre os dados de DQO final, sendo o tempo de 24 horas o mais eficaz em termos de redução de DQO, seguido do tempo 6 horas e finalmente, o período de 12 horas. Neste contexto, o coeficiente de variação obtido foi de 24,16%, um valor considerado alto segundo os critérios de Pimentel-

Gomes & Couto (1985), o que indica alta variabilidade dos resultados. Logo, houve um nível significativo de imprecisão dos dados.

A média geral de todos os valores de DQO final considerando a junção das fontes de variação foi de aproximadamente 18.292,23 mgO₂ L⁻¹. Desta forma, caso fossem desconsideradas as diferenças entre os parâmetros de massa e tempo, os experimentos como um todo seriam caracterizados por uma alta eficiência de redução de DQO (88,69%).

Inicialmente, a composição físico-química do efluente bruto de biodiesel demandava certo consumo de oxigênio dissolvido para a degradação dos compostos oxidáveis presentes. Após o tratamento promovido nos reatores, as reações químicas e bioquímicas decorrentes consumiram parte dos componentes do efluente, atenuando a concentração de oxigênio dissolvido no efluente, necessária para a oxidação das moléculas integrantes da composição inicial.

Nesta perspectiva, em seguida é possível observar uma redução nos valores de DQO após tratamento imposto ao efluente bruto, especialmente no período de 24 horas de tratamento. A Tabela 4 apresenta os valores de demanda química de oxigênio em relação ao efluente tratado nos diferentes tempos de tratamento, submetidos a uma massa de 1,0 g de biofiltro vegetal inoculado com *S. amazonensis* e sem inoculação (controles). A porcentagem de redução de DQO foi calculada a partir dos resultados pré e pós-tratamento, com base na equação a seguir.

$$\eta DQO = \left[\frac{(DQO_{inicial} - DQO_{final})}{DQO_{inicial}} \right] \times 100$$

Tabela 4 – Variação dos resultados de DQO conforme os tempos de tratamento para 1,0 g de biofiltro (massa 1).

Tempos de Tratamento	DQO (mgO ₂ L ⁻¹)	% de Redução (ηDQO)	Controles - DQO (mgO ₂ L ⁻¹)
6h	22.540A	86,07	23.983,53
12h	28.110A	82,63	12.222,65
24h	12.840B	92,06	11.603,66

*Letras iguais não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

Pode-se afirmar que todos os períodos de tratamento obtiveram altos índices de redução de DQO, acima de 80%. Observou-se um aumento considerável na concentração de DQO no período de 12 horas, porém uma redução expressiva durante o tratamento de 24 horas, o qual atingiu uma eficiência de 92,06%. Logo, em relação à massa de 1,0 ± 0,1 g de biofiltro, deduz-

se que o tempo de tratamento é uma variável a ser considerada no aumento da eficiência do processo, uma vez que houve um incremento de cerca de 10% na performance.

As eficiências de remoção de DQO, especialmente a de 24 horas foram semelhantes a um estudo no qual um efluente da purificação do biodiesel foi submetido a um processo de tratamento do tipo foto-fenton utilizando quitosana como uma matriz de adsorção de ferro. Dentre os parâmetros analisados, a DQO atingiu um alto índice de redução (94,52%), após um período de tratamento de 180 minutos (STROPARO; MOLLINARI; DE SOUZA, 2018).

Utilizando diferentes materiais como substrato para crescimento de biofilme, uma pesquisa que buscou tratar um efluente sintético por meio de dois reatores anaeróbicos de fluxo ascendente (UASB) controlados pela velocidade de ascensão, taxa de alimentação e tempo de retenção hidráulica, um contendo um substrato de polietileno e o outro de bucha vegetal (*Luffa cylindrica*). Foi possível observar que o reator provido de bucha vegetal, a 20 °C durante 8,26 horas, adquiriu cerca de 95% de eficiência na redução de DQO, isto é, um valor próximo à performance de 24 horas de tratamento da presente pesquisa (ABDEL-FATTAH et al., 2022).

Em relação à massa de 1,0 g de biofiltro (Tabela 4), a análise estatística mostrou que os resultados de DQO obtidos nos períodos de 6 e 12 horas de tratamento foram estatisticamente iguais. Porém, o ensaio de 24 horas se diferenciou, sendo o mais eficiente na redução de DQO.

É necessário salientar o fato de os ensaios de tratamento para controle do microrganismo eletrogênico inoculado (*S. amazonensis*) terem manifestado resultados de DQO inferiores aos com inoculação, especialmente para o ensaio de 12h, no qual houve um déficit maior que a metade em relação ao ensaio sem o microrganismo. Isto pode ter ocorrido em razão da possível dificuldade de adaptação das bactérias em um substrato com características como as do efluente de biodiesel. Porém, o tratamento de 6 horas com inoculação de *S. amazonensis* mostrou um valor de DQO inferior ao seu respectivo controle (ausência de inóculo), indicando possivelmente um processo de aclimação mais favorável nas horas iniciais de ensaio.

Os ensaios de tratamento dispostos para a massa de $2,0 \pm 0,1$ g de biofiltro indicaram um comportamento dos resultados de DQO de maneira distinta da anterior. A Tabela 5 demonstra uma oscilação entre os valores de DQO, destacando-se o aumento dos resultados entre os tempos de 6 e 12 horas, no qual atingiu-se o pico de DQO neste último, e uma redução brusca no tempo de 24 horas em relação aos anteriores. Em termos de eficiência de redução de DQO, os resultados apresentaram valores próximos entre si, sendo o tempo de 24 horas o mais eficiente no tratamento.

O teste de médias de Tukey ao nível de 5% de significância revelou que houve diferença estatística somente entre os valores de DQO final relativos aos tempos de 12 e 24 horas de

tratamento, nos quais houve um intervalo maior entre os resultados. O valor intermediário (6 horas) juntamente com o tempo de 24 horas, manifestaram a maior eficiência de redução de DQO. Contudo, o tempo de 6 horas apresentou igualdade estatística com ambos os demais períodos.

As eficiências de redução de DQO obtidas foram superiores às de um estudo no qual foi avaliada a influência das características iniciais do processo e de parâmetros operacionais ótimos no desempenho de um reator de biofilme com bucha vegetal destinado à redução de matéria orgânica e nitrogênio alimentado com efluente sanitário. Observou-se uma média de 83,7% de eficiência de redução de DQO dentre os períodos de operação do sistema, nos quais foi possível mostrar que o tempo de retenção hidráulica demonstrou uma influência significativa sobre as eficiências de tratamento. Além disso, os autores indicaram por meio do estudo, que a bucha vegetal é um excelente substrato natural para o tratamento descentralizado de efluentes domésticos (ZHANG; SUN; HU, 2012).

Em se tratando dos controles (tratamento sem a inoculação de *S. amazonensis*) analisados, os resultados de DQO em 6 e 12 horas se mostraram inferiores aos tratamentos inoculados. Pode-se atribuir este fato à não adaptação da bactéria ao efluente bruto durante estes períodos. A presença de microrganismos endógenos do efluente, em conjunto com a espécie inoculada pode ter provocado uma diminuição da atividade microbiana e por sua vez, a redução da eficiência do tratamento. Entretanto, verificou-se o contrário no ensaio de 24 horas, no qual a DQO do tratamento controle apresentou valor superior ao inoculado, manifestando a mesma observação da análise anterior (1,0 g de biofiltro).

Tabela 5 – Variação dos resultados de DQO conforme os tempos de tratamento para 2,0 g de biofiltro (massa 2).

Tempos de Tratamento	DQO (mgO₂ L⁻¹)	% de Redução (ηDQO)	Controles - DQO (mgO₂ L⁻¹)
6h	16.350A	89,90	12222,65
12h	23.160AB	85,69	14698,63
24h	8.300B	94,87	12841,65

*Letras iguais não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

No tocante à massa de 3,0 g de biofiltro, a Tabela 6, em conjunto com a análise estatística realizada com base no teste de médias de Tukey ao nível de 5% de significância, retratam que o aumento dos tempos de tratamento não indicou diferença estatisticamente significativa na eficiência de redução de DQO, especialmente entre o primeiro e último ensaios,

nos quais há o maior intervalo de tempo, embora tenha sido observado que a maior eficiência de tratamento nos ensaios de $3,0 \pm 0,1$ g de biofiltro foi observada durante o teste 6 horas. Dessa forma, o aumento da massa de biofiltro em relação às duas anteriores pode ter interferido na progressão temporal das eficiências de tratamento, principalmente pelo valor de DQO final para o tratamento de 24 horas.

A eficiência de redução de DQO no tocante a outros efluentes como os contaminados com tinturas e corantes, em sistemas que utilizam a bucha vegetal como substrato de tratamento se mostrou distinta das relatadas. Um estudo avaliou o desempenho de uma bactéria da espécie *Proteus vulgaris* imobilizada nas fibras de bucha, na redução de parâmetros como a DQO por meio de degradação e descoloração promovidas pelo microrganismo, de misturas de corantes, em diversas condições operacionais diferentes. Após 72 horas de incubação, foram alcançados 55% de eficiência de redução de DQO (SARATALE et al., 2011).

Os ensaios realizados sem inóculo para os tempos de 6 e 12 horas apresentaram resultados superiores aos inoculados, indicando melhor performance dos ensaios com a presença da bactéria inoculada. No entanto, o ensaio de 24 horas sem inoculação de *S. amazonensis* manifestou uma DQO drasticamente inferior ao seu comparativo, podendo significar possíveis complicações na adaptação do microrganismo com o passar do tempo.

Tabela 6 – Variação dos resultados de DQO conforme os tempos de tratamento para 3,0 g de biofiltro (massa 3).

Tempos de Tratamento	DQO ($\text{mgO}_2 \text{ L}^{-1}$)	% de Redução (ηDQO)	Controles - DQO ($\text{mgO}_2 \text{ L}^{-1}$)
6h	15.110A	90,66	15.317,62
12h	23.570A	85,43	31.411,46
24h	19.650A	87,85	8.508,69

*Letras iguais não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

Em se tratando dos altos índices de tratamento, evidenciados pela diferença entre os valores de DQO inicial e final, os períodos de tratamento testados nos quais a massa de $4,0 \pm 0,1$ g de biofiltro foi submetida apresentaram diferença estatisticamente expressiva, na qual ocorreu o mesmo padrão observado na análise da massa de $2,0 \pm 0,1$ g, ou seja, o resultado de DQO referente ao período de 6 horas não se diferenciou dos demais em termos estatísticos.

Entretanto, os ensaios de 12 e 24 horas apresentaram valores estatisticamente distintos, nos quais o tempo de 24 horas (equivalente a 6 horas) apresentou a maior eficiência de redução

de DQO. Apesar disso, quando comparadas as eficiências entre os ensaios de 6 e 12 horas, houve uma amplitude de redução de DQO de apenas 6,25%.

As eficiências de redução de DQO alcançadas nos períodos de 6 e 24 horas para a massa de $4,0 \pm 0,1$ g foram superiores à encontrada em um experimento realizado para avaliar o desempenho de um sistema de lodos ativados integrado com biofilme fixo para o tratamento de um efluente de cimento, por meio da aplicação de dois substratos diferentes para crescimento de biofilme, compostos por esponjas de poliuretano e por bucha vegetal em reatores separados e em um reator combinado por ambos os materiais. Foram analisados alguns parâmetros físico-químicos e dentre estes, o sistema combinado revelou uma eficiência de redução de DQO de 87,8% (ALI et al., 2021).

Foi possível perceber certo padrão a partir da análise da influência do tempo na redução de DQO, no qual os ensaios envolvendo a massa de 4,0 g de biofiltro refletiram um comportamento semelhante aos de 1,0 e 2,0 g, no sentido de expressarem um incremento nos valores de DQO final entre os tempos de 6 e 12 horas e a consequente redução leve nas eficiências de tratamento, mas que apresentaram o pico da performance no tempo de 24 horas. Com o valor de $10.984,66 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$, o tratamento de 24 horas expressou a menor DQO em se tratando de 4,0 g de material filtrante.

Quanto às amostras sem e com inóculo microbiano, a comparação entre os mesmos permitiu observar que houve influência do microrganismo *S. amazonensis*, nos quais os ensaios com inoculação apresentaram resultados melhores do que os isentos do microrganismo, principalmente em relação ao período de 6 horas. Isto pode estar atrelado ao fato de tempos mais curtos serem mais favoráveis ao desenvolvimento das bactérias inoculadas em função de maiores massas de biofiltro.

Estas observações são baseadas nos resultados analíticos mostrados na Tabela 7.

Tabela 7 – Variação dos resultados de DQO conforme os tempos de tratamento para 4,0 g de biofiltro (massa 4).

Tempos de Tratamento	DQO ($\text{mgO}_2 \text{ L}^{-1}$)	% de Redução (ηDQO)	Controles - DQO ($\text{mgO}_2 \text{ L}^{-1}$)
6h	17.790A	89,00	23.364,54
12h	21.090AB	86,96	21.507,56
24h	10.980B	93,21	13.460,64

*Letras iguais não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%.

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

5.1.2 Influência da massa de biofiltro na redução de DQO

Além do tempo no qual o efluente foi submetido ao tratamento, foram variadas massas de biofiltro com o intuito de analisar o comportamento da degradação biológica em função da quantidade de superfície específica disponível para formação do biofilme, diretamente proporcional a massa de biofiltro ($m1 = 1,0 \pm 0,1$ g; $m2 = 2,0 \pm 0,1$ g; $m3 = 3,0 \pm 0,1$ g; $m4 = 4,0 \pm 0,1$ g).

É necessário relembrar que uma das dificuldades encontradas na uniformização de cada peça do biofiltro se deu pela irregularidade da disposição espacial das fibras e as peculiaridades de cada fruto. Em outras palavras, peças de massas iguais por vezes possuíam volumes distintos, ocupando maiores ou menores espaços nos reatores. Logo, por mais que massas iguais teoricamente indicassem a mesma quantidade de superfície específica disponível para formação de biofilmes mais homogêneos, não há plena garantia de que os biofilmes se espalharam mais nas massas maiores e menos nas menores. Estas observações podem ter indicado certa influência na falta de conformidade entre os parâmetros analisados orientados pelas massas de biofiltro.

Outra constatação importante em relação aos ensaios de tratamento foi a biomassa (lodo) decantada no fundo dos reatores ao final dos processos, o que já era esperado na etapa de planejamento. Como pode ser visto na Figura 6, camadas esbranquiçadas dos resíduos do tratamento se depositaram no fundo dos béqueres.

Figura 6 – Camada de lodo residual decantada no fundo dos reatores após o ensaio de tratamento de 24 horas.



O teste de médias de Tukey ao nível de 5% de significância demonstrou que as médias dos resultados de DQO relativas aos tempos de tratamento, em função de cada massa de biofiltro não apresentaram diferenças estatísticas entre si.

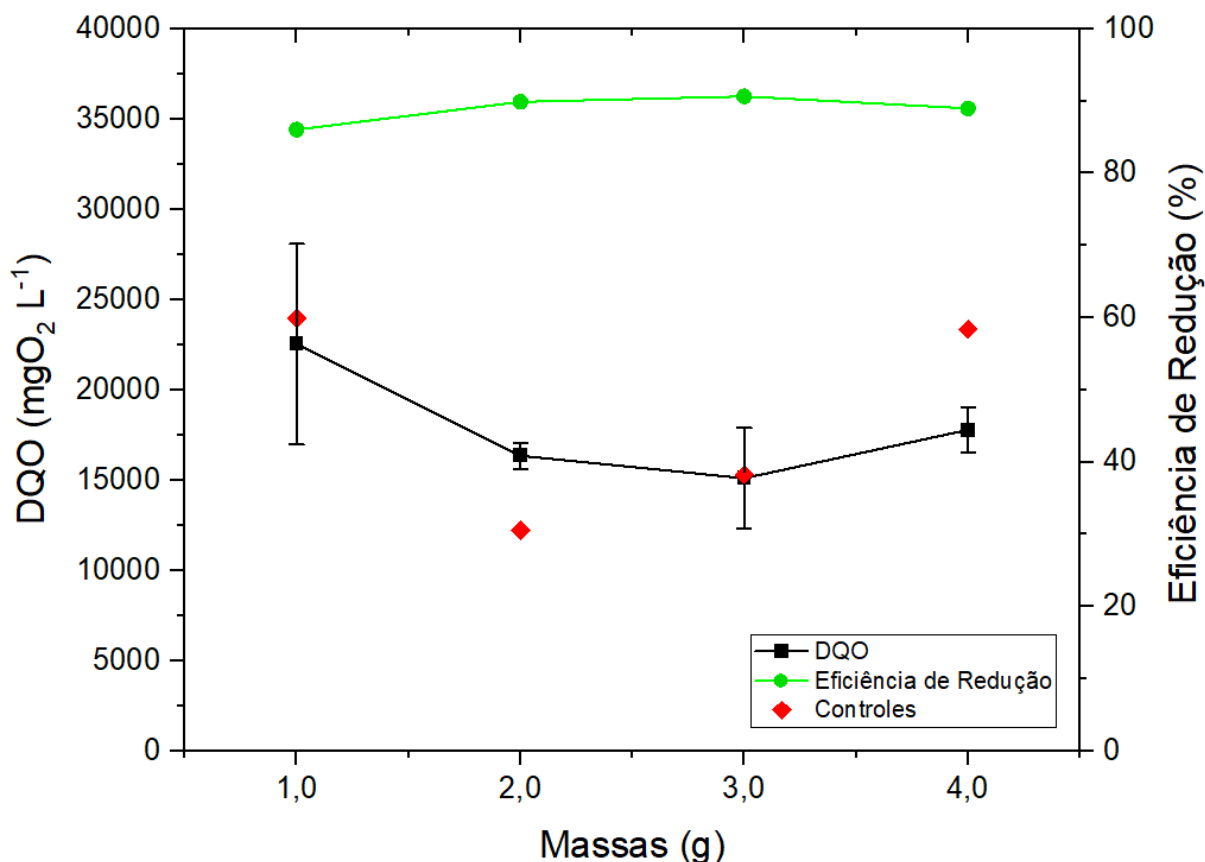
A respeito do tempo de 6 horas de tratamento, os valores de DQO final (Figura 7) mostraram uma redução da carga química em função das massas de biofiltro, exceto a massa de 4,0 g, que manifestou um leve aumento da concentração de oxigênio consumida. Apesar disso, o teste de médias indicou que não houve diferença estatística entre os resultados, isto é, as massas de biofiltro no tempo de 6 horas não provocaram efeitos estatisticamente significativos sobre os valores de DQO.

Mesmo assim, as eficiências de redução alcançaram altas performances, entre 85 e 91%. Desempenhos semelhantes foram obtidos em uma pesquisa envolvendo a semente da bucha vegetal como substrato para o tratamento de um efluente contaminado com corantes em um sistema composto por *Jar Test* na configuração Box-Behnken, por meio dos processos de coagulação e floculação. Em pH ácido, os ensaios apontaram uma eficiência de redução de DQO de 90,07% (NNAJI et al., 2022). No tratamento de um efluente sanitário, foram comparadas as eficiências de pedras e de bucha vegetal como meios suporte em filtros biológicos percoladores. Foram atingidas eficiências entre 61 e 66% de redução de DQO nos filtros constituídos por bucha vegetal, enquanto os filtros de pedra alcançaram entre 57 e 63%. Além disso, foi constatado que o biofilme formado sobre as fibras de bucha possuiu maior diversidade de espécies microbianas, e se encontrava em um estágio maior de desenvolvimento (VIANNA; DE MELO, 2019).

Além do mais, devem ser mencionados os resultados dos controles de *S. amazonensis*. Sem a adição do microrganismo, três das massas testadas expressaram valores de DQO superiores aos inoculados, excluindo-se somente a concentração correspondente à massa de 2,0 g. Neste contexto, a massa de 4,0 g se destacou pela diferença entre as DQO com inoculação e seu respectivo controle, uma vez que este último mostrou cerca de 5.500 mgO₂ L⁻¹ em relação ao comparativo.

Estas constatações podem apontar certa influência que a inoculação da bactéria inoculada provocou nos experimentos, especialmente em relação à massa de 4,0 g de biofiltro.

Figura 7 – Variação dos resultados de DQO, eficiência de redução e controles, conforme as massas de biofiltro para 6 horas de tratamento.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

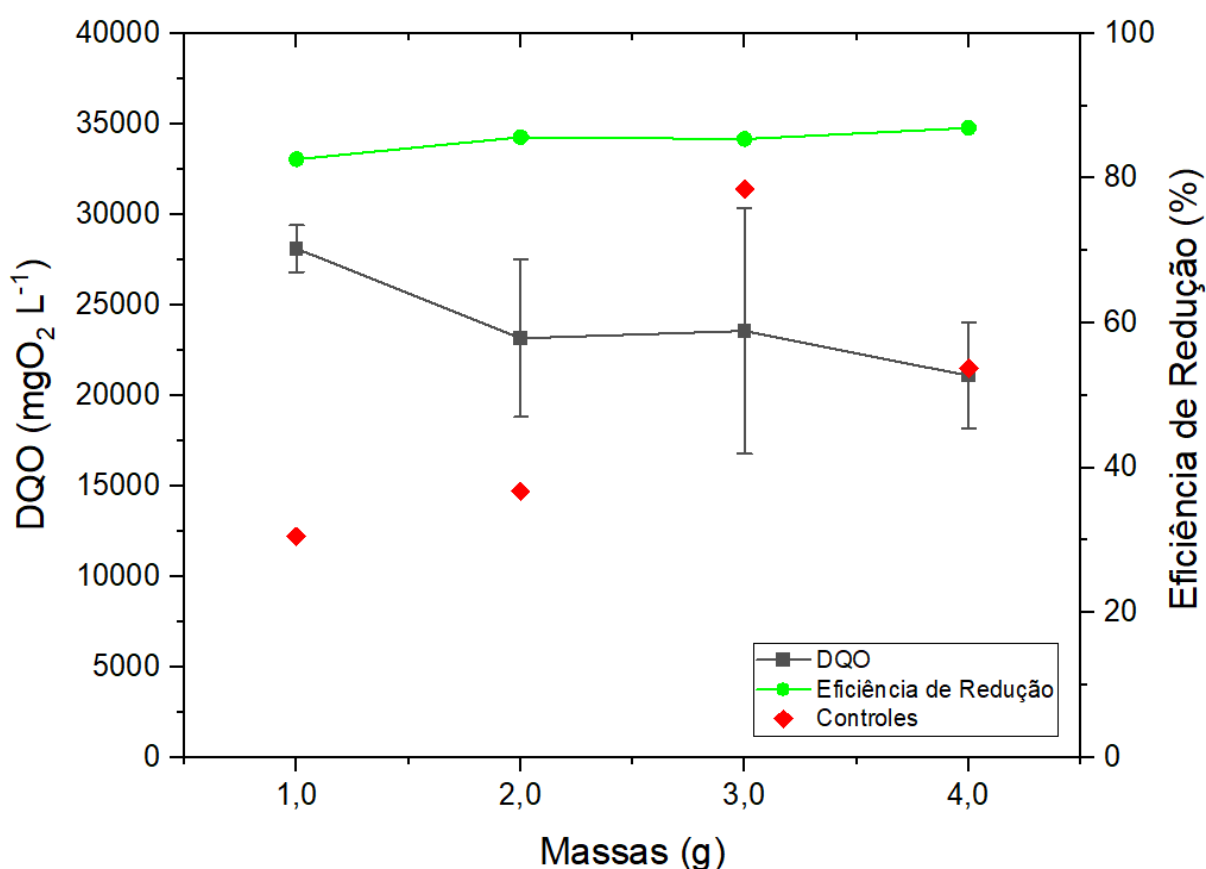
No que tange o ensaio de tratamento de 12 horas, as massas de biofiltro também não apresentaram atenuação estatisticamente significativa da carga de DQO. Neste caso, as massas as eficiências de redução de DQO também se apresentaram iguais. Os resultados do ensaio de 12 horas podem ser vistos na Figura 8.

Apesar da equivalência estatística entre todos os resultados, o distanciamento entre as DQO associadas às massas de 1,0 e 4,0 g foi considerável, podendo existir a hipótese de que em massas maiores do que as testadas nestes experimentos, a superfície específica de biofiltro para formação de biofilme, a qual teoricamente é diretamente proporcional à massa total das fibras, é um fator determinante para elevar a eficiência do tratamento. A Figura 8 lista os valores de DQO pós-tratamento, eficiência de redução e os controles dos ensaios.

As eficiências de redução de DQO foram significativamente superiores à encontrada em um estudo no qual foi avaliado um processo biológico dois estágios, utilizando um reator de filtro biológico com fungos aderidos às fibras de bucha vegetal e após, um reator de lodos ativados, para o tratamento de um efluente petroquímico contendo polímeros de ácido naftaleno

sulfônico. O processo no reator com fungos foi operado em diferentes tempos de retenção hidráulica. Foi obtida uma eficiência de redução de DQO da ordem de 50% após 53 dias de ensaio. Esta performance foi cerca de 10% superior ao processo realizado somente pelo reator de lodos ativados. Foi constatado também, que a bucha vegetal como suporte para o crescimento fúngico reduziu a contaminação por bactérias no filtro biológico, além de elevar a produção enzimática de lacase (PALLI et al., 2021).

Figura 8 – Variação dos resultados de DQO, eficiência de redução e controles, conforme as massas de biofiltro para 12 horas de tratamento.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

Enquanto o ensaio de controle do microrganismo inoculado apresentou igualdade em relação à massa de 4,0 g, podendo evidenciar a indiferença da bactéria inoculada frente à redução de DQO, as massas de 1,0 e 2,0 g refletiram valores de DQO final consideravelmente inferiores aos controles correspondentes, ou seja, o tratamento isento de *S. amazonensis* foi mais eficaz que os comparativos das massas citadas. Isto pode estar atribuído a alguma perturbação associada à menores superfícies disponíveis para formação de biofilme (massas de

2,0 e 3,0 g) no período de 12 horas de tratamento, até mesmo pelo fato da massa de 3,0 g ter manifestado um valor controle muito superior ao inoculado.

Deve-se lembrar que foi observado durante a análise dos tempos de tratamento, que o tempo de 12 horas retratou os maiores valores de DQO final em função de todas as massas experimentadas. Matematicamente, este período de tratamento foi o menos eficaz no tocante à redução de DQO.

Como pode ser verificado na Figura 9, os ensaios de 24 horas mostraram que a massa de 2,0 g apresentou o menor valor de DQO final ($8.300 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$) em relação às demais massas, atingindo matematicamente a maior eficiência de redução de DQO entre todas as massas analisadas nos outros períodos de tratamento. No entanto, a análise estatística efetuada por meio do teste de médias de Tukey ao nível de 5% de significância permitiu concluir que houve diferença estatística entre os resultados. Como pode ser visto no gráfico da Figura 9, os desvios padrão correspondentes às massas de 2,0 e $3,0 \pm 0,1$ g não tem interação. Logo, pode-se afirmar que as massas de 1,0; 3,0 e $4,0 \pm 0,1$ g não manifestaram diferença estatística na redução de DQO. Simultaneamente, as massas de 1,0; 2,0 e $4,0 \pm 0,1$ g também não se diferenciaram estatisticamente, apresentando valores de DQO final iguais entre si. Dessa forma, somente as massas de 2,0 e $3,0 \pm 0,1$ g provocaram efeitos estatisticamente significativos sobre a redução de DQO no ensaio de 24 horas de tratamento.

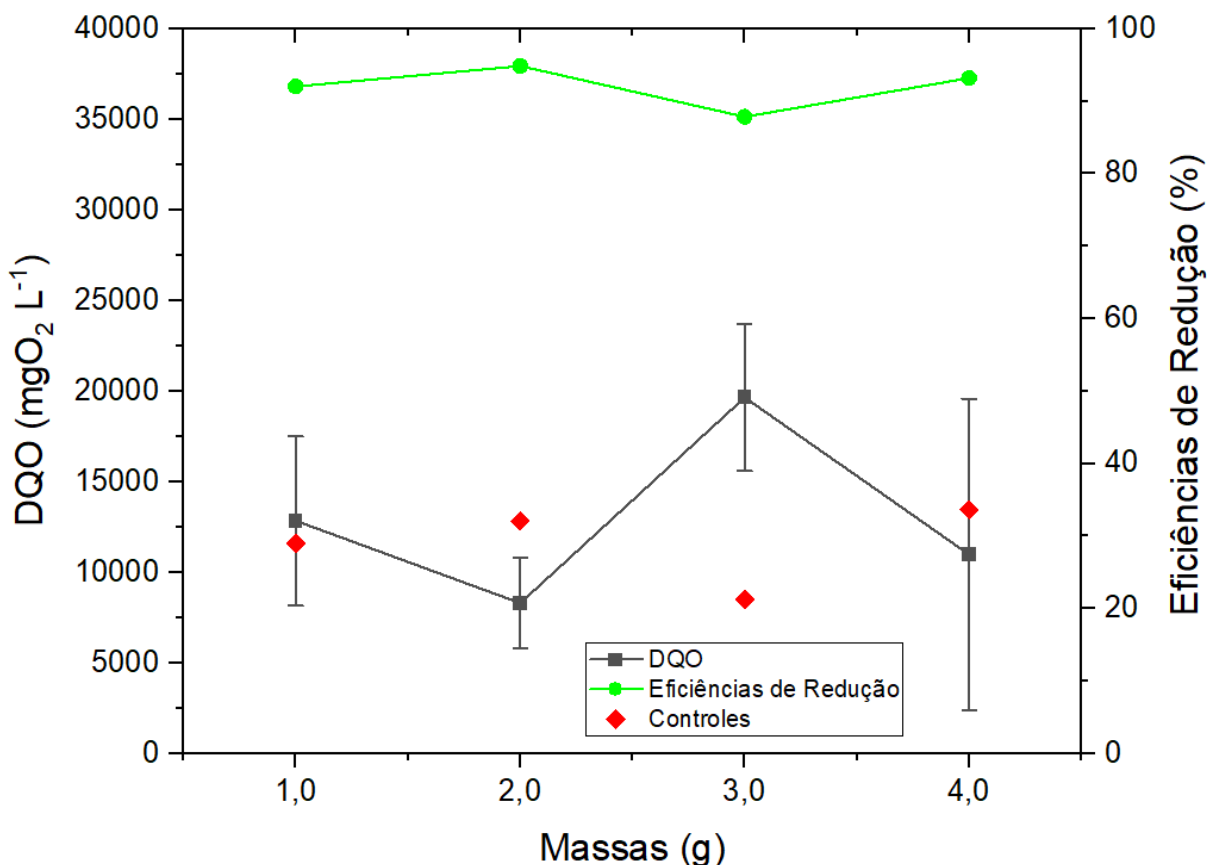
Além disso, quando comparados aos outros períodos de tratamento testados, a maior parte das massas testadas durante 24 horas de tratamento, sendo estas as de 1,0; 2,0 e 4,0 g (estatisticamente iguais), demonstrou quantitativamente os menores valores de DQO final, refletindo simultaneamente as maiores eficiências de redução de DQO para as massas mencionadas.

Estas eficiências de redução de DQO, superiores a 90% em quase todas as massas de biofiltro avaliadas, ultrapassaram performances como a obtida em um estudo de investigação da capacidade de tratamento de um efluente lácteo, por meio de um consórcio entre microalgas utilizadas no tratamento de efluentes da mesma natureza, com microalgas produtoras de matéria-prima para uma indústria de biodiesel. Dentre os parâmetros avaliados, a eficiência de redução de DQO promovida pelo sistema diminuiu a concentração entre 57.01 e 62.86% (QIN et al., 2016).

Os controles avaliados neste contexto apresentaram valores de DQO inferiores em relação às massas de 1,0 e 3,0 g de biofiltro, indicando tratamentos mais eficazes com a inoculação de *S. amazonensis*, o que não ocorreu com as DQO relativas às massas de 2,0 e 4,0 g, nas quais seus controles apresentaram resultados superiores aos dos ensaios inoculados,

levantando-se a hipótese acerca da capacidade de adaptação dos consórcios microbianos entre a bactéria inoculada e os microrganismos endógenos ao efluente de biodiesel.

Figura 9 – Variação dos resultados de DQO, eficiência de redução e controles, conforme as massas de biofiltro para 24 horas de tratamento.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

Após o término do ensaio de 24 horas de tratamento, foi observada a formação de pequenos aglomerados de material entre as fibras do biofiltro, distribuídas aleatoriamente, como é mostrado na Figura 10. Provavelmente, estes amontoados podem ser biofilmes concentrados, inicialmente formados no período de crescimento prévio e desenvolvidos durante o tempo de tratamento controlado.

Figura 10 – Aglomerados de cor branca espalhados nas fibras de biofiltro após o tratamento de 24 horas.

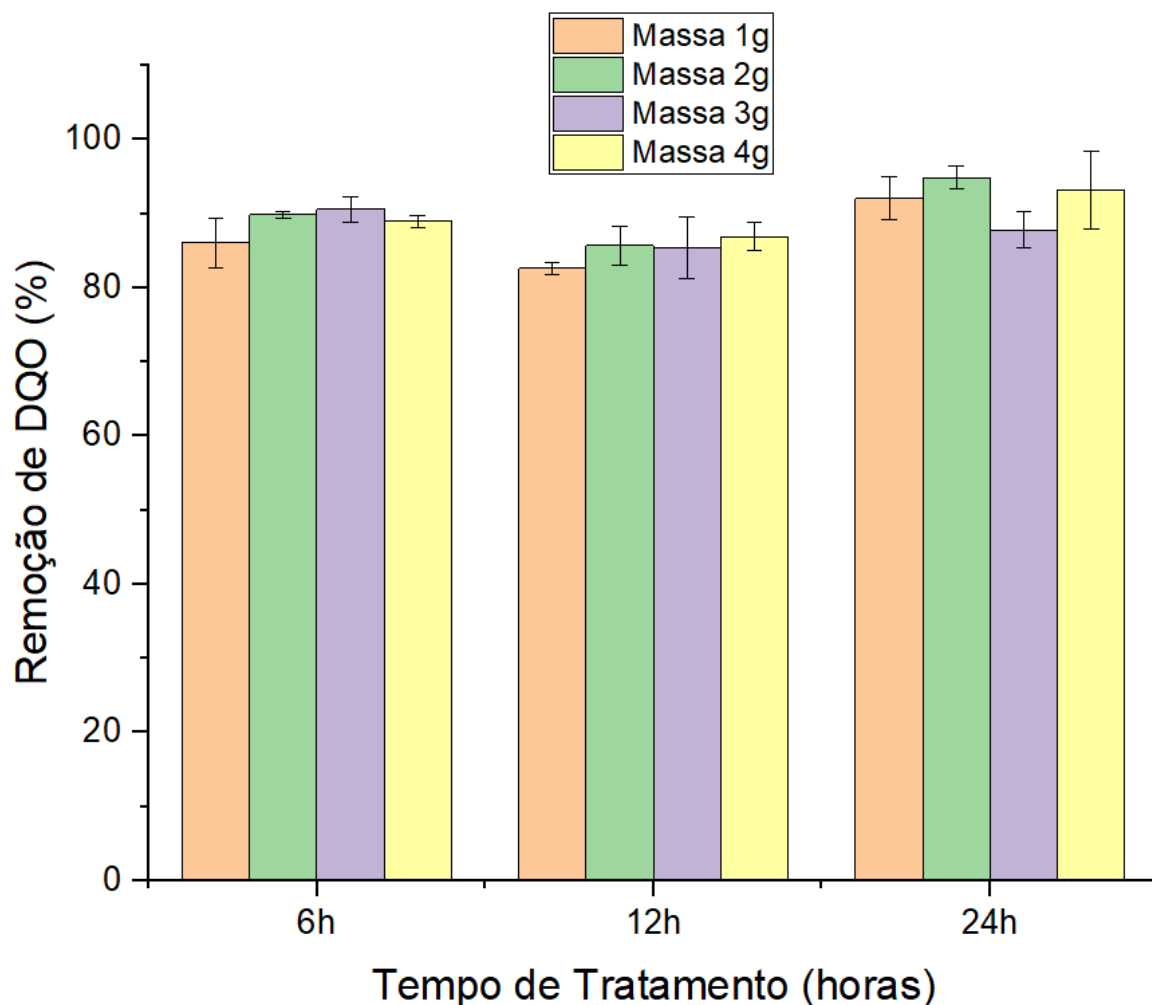


Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

A Figura 11 exibe um gráfico que sintetiza as eficiências de redução de DQO, obtidas a partir do cálculo entre os valores inicial e finais de DQO, nos quais os últimos foram coletados ao longo dos ensaios de tratamento. Pode-se verificar que somente a massa de 3,0 g, em todos os tempos de tratamento, não manifestou diferença estatística entre os valores de DQO final.

Outro ponto a ser considerado diz respeito à análise das massas de biofiltro, nas quais só foi constatada significância estatística entre os valores relativos ao tempo de 24 horas.

Figura 11 – Resultados médios de redução de DQO (%) para cada ensaio de tratamento realizado, em relação às massas de biofiltro.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

5.2 DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXIGÊNIO

As análises de demanda bioquímica de oxigênio seguiram os mesmos procedimentos da anterior, quanto à avaliação das eficiências de redução promovidas por cada massa de biofiltro em cada tempo de tratamento nos quais os reatores foram submetidos.

Ao contrário do que ocorreu com as análises de DQO, a partir a aplicação do teste de Shapiro-Wilk sobre os dados de DBO final, foi possível constatar que não houve distribuição normal. Dessa forma, não foram efetuadas as análises de variância e teste de médias para detecção de diferenças estatisticamente significantes referentes às fontes de variação (massa de biofiltro e tempo de tratamento). Logo, as observações realizadas nos tópicos posteriores não foram amparadas pela análise estatística, sendo somente o levantamento de hipóteses acerca do

comportamento da DBO no decorrer dos ensaios de tratamento, levando em consideração a comparação entre as médias com base nos desvios padrão.

$$\eta_{DBO} = \left[\frac{(DBO_{inicial} - DBO_{final})}{DBO_{inicial}} \right] \times 100$$

5.2.1 Influência do tempo de tratamento na redução de DBO

A variação dos períodos de tratamento sobre os resultados de DBO final é apresentada nas Tabelas 8 a 11, de acordo com cada massa de biofiltro.

Em relação à massa de $1,0 \pm 0,1$ g de biofiltro, foi possível observar reduções consideráveis entre os períodos avaliados. A queda brusca entre os tempos de 6 e 12 horas significou um aumento de cerca de 16% na eficiência de redução de DBO. Além disso, houve um aumento relativamente pequeno durante o período de 24 horas em relação ao anterior. A eficiência do processo em 12 horas pode ser atribuída um pico de atividade metabólica dos microrganismos na degradação da matéria orgânica. É necessário destacar que os valores de controle de DBO se apresentaram superiores aos comparativos somente nos períodos de 12 e 24 horas, o que pode ter relação com o tempo necessário para aclimação da *S. amazonensis* após 6 horas de ensaio.

É válido ressaltar que as eficiências de redução de DBO destes ensaios foram semelhantes à retratada em um estudo no qual foram avaliados os níveis de DBO, fósforo e amônia no tratamento de um efluente artificial por meio da utilização de reatores de biofilme montados com suportes físicos diferentes, nos quais um recebeu um suporte de PVC e o outro de bucha vegetal. Os pesquisadores relataram uma eficiência de remoção de DBO de 92,5% no reator com bucha vegetal, em detrimento do montado com meio suporte de PVC (RUIZ-MARÍN et al., 2009).

Tabela 8 – Variação dos resultados de DBO conforme os tempos de tratamento para 1,0g de biofiltro (massa 1).

Tempos de Tratamento	DBO (mgO₂ L⁻¹)	% de Redução (ηDBO)	Controles - DBO (mgO₂ L⁻¹)
6h	10.765 ± 552	81,45	5.299,20
12h	1.320 ± 330	97,73	11.647,20
24h	3.420 ± 1.660	94,10	11.095,20

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

Quanto à massa de $2,0 \pm 0,1$ g, a relação entre as DQO relativas aos períodos de 6 e 24 horas foram opostas à anterior. O aumento da quantidade de superfície disponível para formação do biofilme pode ter provocado uma perturbação na atividade microbiológica desempenhada pelas bactérias presentes nestes reatores, em função dos tempos de tratamento. Em contrapartida, novamente foi observada maior eficiência de tratamento no ensaio de 12 horas de duração, no qual foi atingido o valor de 97,97% de redução de DBO.

Neste cenário, todas as análises de controle do microrganismo inoculado manifestaram valores de DQO finais superiores aos comparativos. Atribui-se a este fato a hipótese de que a bactéria inoculada promoveu efeitos benéficos para o tratamento, uma vez que sua presença correspondeu a reduções de DBO significativamente inferiores, principalmente nos ensaios de 6 e 12 horas.

Pesquisadores investigaram o potencial da bucha vegetal no tratamento de um efluente de um viveiro de peixes por meio de um reator de leito compactado de biomassa. Para aplicação no sistema, foram testadas buchas na forma natural e modificadas por meio da técnica de mercerização em solução de hidróxido de sódio a 0,5 M. As mesmas foram caracterizadas através de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier. Foram analisados parâmetros de qualidade de efluentes, dentre os quais a DBO foi reduzida de 3,5 para 0,6 mg L⁻¹ pelo processo envolvendo as fibras modificadas, isto é, uma eficiência de cerca de 83% (IGHALO et al., 2020b).

Tabela 9 – Variação dos resultados de DBO conforme os tempos de tratamento para 2,0g de biofiltro (massa 2).

Tempos de Tratamento	DBO (mgO₂ L⁻¹)	% de Redução (ηDBO)	Controles - DBO (mgO₂ L⁻¹)
6h	3.760 ± 450	93,52	14.959,20
12h	1.180 ± 280	97,97	11.923,20
24h	8.125 ± 1.890	86,00	11.953,20

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

No tocante à massa de $3,0 \pm 0,1$ g, os períodos inicial e final (6 e 24 horas) apresentaram coerência na redução de DBO conforme o aumento do tempo de ensaio. Contudo, o período de 12 horas foi o que obteve o menor valor de DBO final, da mesma forma que as massas anteriores. Mesmo considerando os desvios padrão, nenhum resultado de DBO foi igual a outro, matematicamente. Isto pode indicar que o tempo de tratamento pode ter influência significativa na redução de DBO do efluente de biodiesel.

A relação existente entre o volume de efluente aplicado nos reatores e as massas de biofiltro avaliadas, principalmente a de $3,0 \pm 0,1$ g, em virtude de esta ter exposto o menor valor de DBO final quando comparada às demais massas (eficiência de 98,54%), pode ter implicado em um tratamento ótimo constituído pela massa de $3,0 \pm 0,1$ g combinada com o período de 12 horas.

Um estudou apresentou uma eficiência de redução de DQO semelhante, a partir de um experimento que buscou avaliar a performance de sistemas compostos por reatores de batelada sequencial com biofilme (SBBR) para o tratamento de esgoto, nos quais foram comparados os comportamentos de meios suporte de esponja plástica e bucha vegetal. Foi concluído que a bucha vegetal é mais adequada como suporte para crescimento de microrganismos do que a esponja constituída de material plástico, em razão dos parâmetros analisados antes e após o tratamento. Dentre eles, a eficiência de redução de DQO foi de 89%, comparada aos 83% manifestados pelo material artificial (WANG et al., 2012).

As análises de controle mostraram que possivelmente o microrganismo inoculado promoveu uma melhora na performance dos tratamentos, visto que foram identificadas diferenças expressivas entre os valores de controle e os ensaios de tratamento com a presença de *S. amazonensis*.

Tabela 10 – Variação dos resultados de DBO conforme os tempos de tratamento para 3,0g de biofiltro (massa 3).

Tempos de Tratamento	DBO (mgO₂ L⁻¹)	% de Redução (ηDBO)	Controles - DBO (mgO₂ L⁻¹)
6h	10.580 ± 890	81,77	12.475,20
12h	845 ± 175	98,54	8.611,20
24h	6.135 ± 1.010	89,43	12.751,20

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

Finalmente, a massa de $4,0 \pm 0,1$ g apresentou um comportamento semelhante às demais avaliadas, em função dos períodos de tratamento. Com um valor intermediário de DBO final no período de 24 horas, a maior eficiência de redução de DBO foi atingida no ensaio de 12 horas de tratamento, no qual alcançou-se 97,77% de performance. Apesar do alto desvio padrão demonstrado pelo ensaio de 24 horas, o intervalo não se cruzou com os demais.

Em se tratando da maior massa testada nos experimentos, o tratamento durante 12 horas apresentou mais uma vez a maior redução de DBO em comparação com os períodos de 6 e 24 horas. Esta observação contribui para a veracidade da possibilidade de o período de 12 horas se

apresentar como o tempo ótimo de tratamento do efluente de biodiesel promovido pelos biofiltros.

Neste cenário, os biofilmes aderidos às fibras vegetais incorporadas com ágar bacteriológico podem ter encontrado condições ótimas de crescimento e atividade metabólica durante 12 horas de ensaio. Reitera-se a sugestão de que outros tempos de tratamento mais longos sejam avaliados para investigação do comportamento temporal dos microrganismos no consumo de matéria orgânica biodegradável que constitui o efluente.

Tabela 11 – Variação dos resultados de DBO conforme os tempos de tratamento para 4,0g de biofiltro (massa 4).

Tempos de Tratamento	DBO (mgO₂ L⁻¹)	% de Redução (ηDBO)	Controles - DBO (mgO₂ L⁻¹)
6h	9.660 ± 955	83,35	10.543,20
12h	1.295 ± 330	97,77	13.027,20
24h	4.715 ± 1.980	91,88	8.611,20

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

Embora tenha sido realizado um ensaio de tratamento sem o crescimento prévio de biofilme por 24 horas, como ocorreu nos demais ensaios, também se observou neste processo a formação de estruturas esbranquiçadas aderidas às fibras de biofiltro em certas partes dos reatores após o tratamento, como pode ser verificado na Figura 12. Estas estruturas podem estar atribuídas ao crescimento de biofilmes espessos ao longo do período de tratamento, no qual os microrganismos possivelmente encontraram condições favoráveis ao seu desenvolvimento.

Outra observação a ser destacada foi a presença de bolhas sendo formadas próximas à região onde o provável biofilme mais espesso foi detectado, concluindo-se que ocorreu a produção de oxigênio (O₂) ou gás carbônico (CO₂) durante o tratamento, originados respectivamente pela provável atividade fotossintética de algas reproduzidas durante o processo ou pela respiração anaeróbica proveniente de bactérias anaeróbias e/ou facultativas. Devido a não vedação total dos reatores, a agitação constante do efluente durante os ensaios pode ter provocado a dissolução de oxigênio do ar para o líquido, ofertando o gás para microrganismos aeróbios existentes.

Figura 12 – Estrutura gelatinosa observada na região inferior do biofiltro durante o tratamento de 6 horas.



5.2.2 Influência da massa de biofiltro na redução de DBO

As análises de demanda bioquímica de oxigênio também foram avaliadas em função das massas de biofiltro testadas nas experimentações, com o objetivo de investigar se a quantidade de superfície disponível para formação de biofilme provocou efeitos expressivos sobre a DBO. Devido à ausência de distribuição normal neste conjunto de dados, as constatações realizadas foram amparadas somente pela comparação matemática baseada nos desvios padrão calculados a partir das médias dos valores medidos nas amostras em triplicata. A influência da massa de biofiltro em cada tempo de tratamento está descrita pelos gráficos contidos nas Figuras 13 a 15.

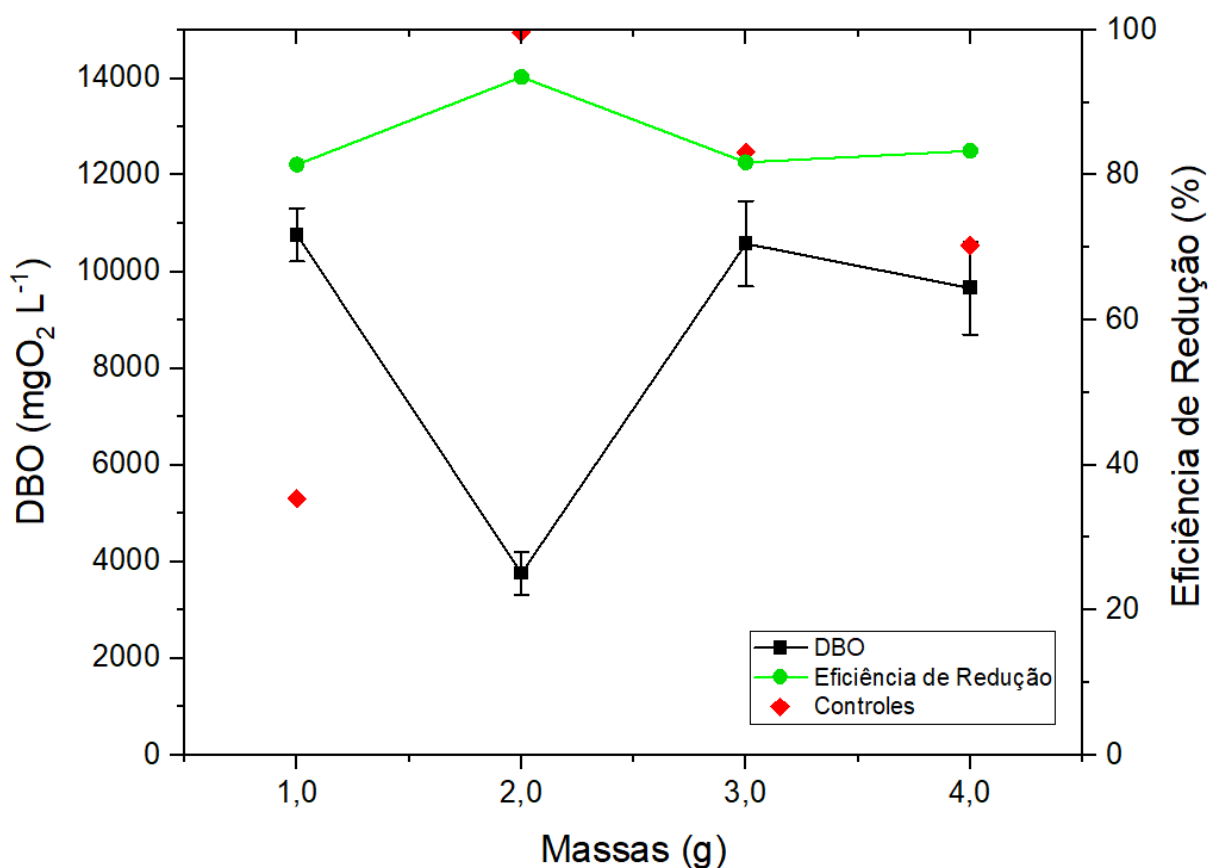
Em relação ao período de 6 horas, pode-se observar no gráfico da Figura 13 que três das massas avaliadas ($1,0$; $3,0$ e $4,0 \pm 0,1$ g) apresentaram valores de DBO final muito próximos entre si, nos quais seus desvios padrão interagiram matematicamente, indicando que não houve diferenças significativas entre o comportamento do tratamento promovidos por estas massas. Entretanto, o tratamento realizado pela massa de $2,0 \pm 0,1$ g de biofiltro manifestou um valor substancialmente inferior aos demais, traduzindo uma alta eficiência de redução de DBO (97,97%). Esta observação está amparada pelo grande intervalo entre os desvios padrão referente massa de $2,0 \pm 0,1$ g e os demais.

Todas as eficiências de redução de DBO apresentadas nos ensaios de 6 horas evidenciaram valores acima de 80%, performances superiores à atingida por um grupo de pesquisadores que buscaram avaliar o desempenho de um reator de leito compactado de biomassa, no qual foram inseridas peças de bucha vegetal também modificadas por

mercerização em solução de hidróxido de sódio a 0,5 M, porém para o tratamento de um efluente de uma indústria de tintas. Os parâmetros avaliados foram pH, cor, sólidos dissolvidos totais, sólidos suspensos totais, oxigênio dissolvido, DQO e DBO. Alguns parâmetros não apresentaram conclusões positivas. Porém, a eficiência de redução de DBO alcançou 82% por meio da bucha modificada em 30 minutos de ensaio (IGHALO et al., 2020a).

Outra observação importante está relacionada aos controles de DBO representados pelos pontos em vermelho na Figura 13. Com exceção do controle da massa de $1,0 \pm 0,1$ g, a qual apresentou um controle muito inferior à análise em comparação, e o relativo à massa de $4,0 \pm 0,1$ g, que se enquadrou dentro do intervalo de desvio padrão do resultado de DBO, os controles das massas de 2,0 e $3,0 \pm 0,1$ g se demonstraram superiores aos dos ensaios de tratamento com inoculação. Enquanto o microrganismo inoculado não provocou efeitos significativos nas DBO correspondentes às massas de 1,0 e $4,0 \pm 0,1$ g, levanta-se a hipótese de que a bactéria adicionada aos reatores nos ensaios com inoculação trouxe melhorias na redução de DBO relativas às demais massas, essencialmente na massa de $2,0 \pm 0,1$ g.

Figura 13 – Variação de DBO, eficiência de redução e controles do efluente tratado conforme cada massa de biofiltro em relação ao tratamento de 6 horas.

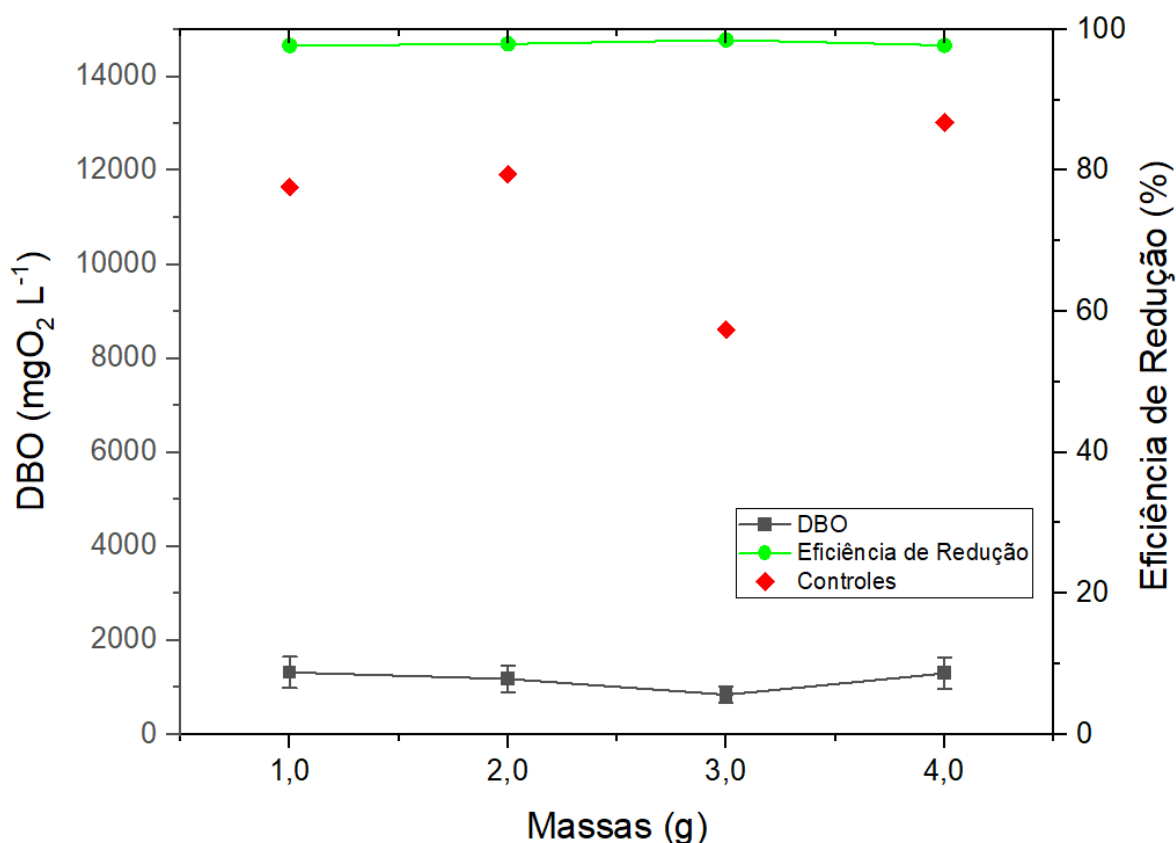


Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

No que tange o ensaio de 12 horas de tratamento, foram observados os menores valores de DBO para todas as massas avaliadas, quando comparadas com os demais tempos. As concentrações se apresentaram muito próximas umas das outras, bem como seus desvios padrão. Pode-se inferir que estes valores são equivalentes entre si, significando que as massas de biofiltro não manifestaram diferenças significativas nos resultados de DBO, embora tenham atingido quase a remoção completa da carga orgânica biodegradável do efluente de lavagem de biodiesel.

Deve-se mencionar ainda as diferenças acentuadas existentes entre os controles de DBO e os respectivos ensaios, nos quais o controle de $3,0 \pm 0,1$ g se apresentou na faixa de $8.600 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$, enquanto os demais controles retrataram valores superiores a $11.000 \text{ mgO}_2 \text{ L}^{-1}$ de DBO. Neste contexto, deduz-se que a bactéria da espécie *S. amazonensis* produziu uma repercussão significativa sobre o consumo de matéria orgânica biodegradável. Em outras palavras, é possível que a presença do microrganismo inoculado, em conjunto com os endógenos naturalmente presentes no efluente, tenha sido determinante no tratamento do efluente em termos de redução de DBO.

Figura 14 – Variação de DBO, eficiência de redução e controles do efluente tratado conforme cada massa de biofiltro em relação ao tratamento de 12 horas.



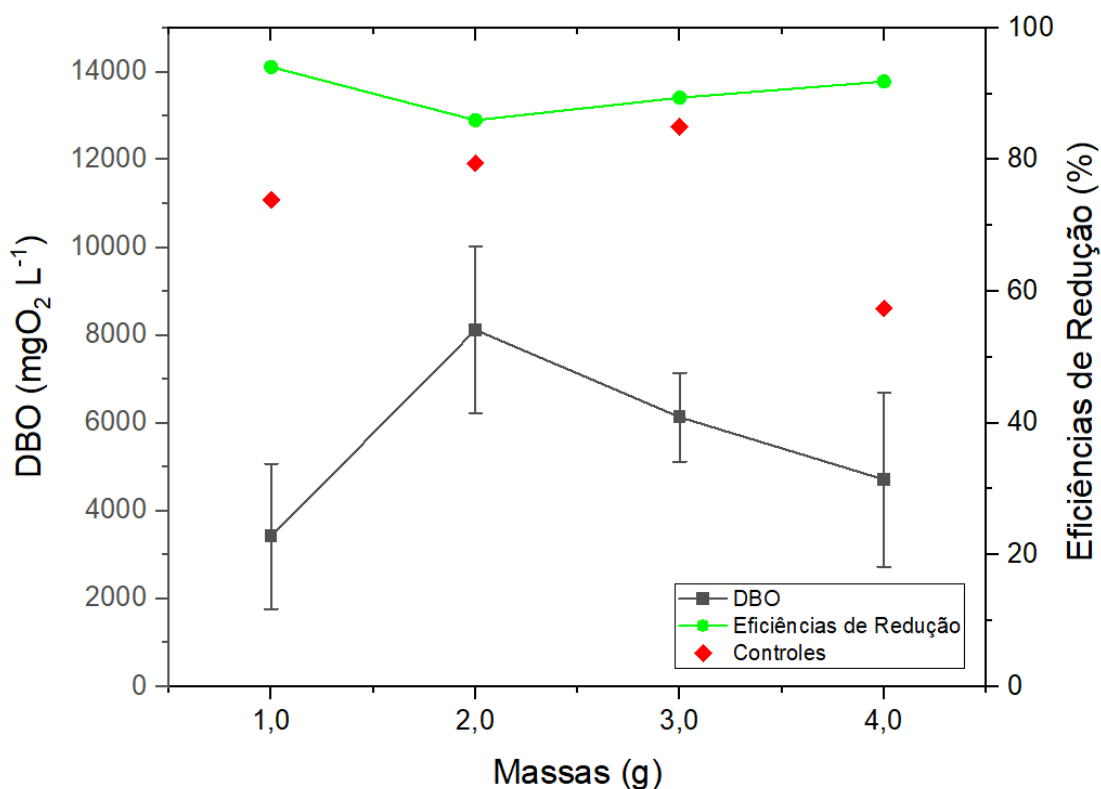
Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

No que concerne ao período de 24 horas, este foi caracterizado pelos altos desvios padrão manifestados pelas médias calculadas. A comparação entre os desvios padrão das DBO relativas a cada massa de biofiltro permite observar que somente as massas de 1,0 e $2,0 \pm 0,1$ g se diferenciaram matematicamente, ou seja, as massas de 2,0; 3,0 e $4,0 \pm 0,1$ g podem ter apresentado resultados de DBO equivalentes entre si, enquanto as massas de 1,0; 3,0 e $4,0 \pm 0,1$ g também não se distinguiram. Devido a indiferença entre as DBO que correspondem às massas de 3,0 e $4,0 \pm 0,1$ g, existe a possibilidade de a massa de $1,0 \pm 0,1$ g ter sido a mais eficaz na redução de DBO em relação às demais.

Uma pesquisa mostrou a possibilidade de reúso do efluente tratado do biodiesel por meio da redução de parâmetros como a DBO, em um processo de nanofiltração em que foram avaliados três tipos de membrana (TW30, NE90 and NE70). A membrana TW30, sob o controle de alguns parâmetros operacionais, mostrou que foi possível atingir 85,6% de eficiência de redução de DBO (MOZAFFARIKHAH et al., 2017).

Além do mais, todos os valores de controle se mostraram superiores às DBO dos ensaios de tratamento com inoculação. Novamente existe a possibilidade de o microrganismo inoculado ter provocado efeitos positivos na redução da DBO do efluente tratado.

Figura 15 – Variação de DBO, eficiência de redução e controles do efluente tratado conforme cada massa de biofiltro em relação ao tratamento de 24 horas.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As pesquisas e experimentações realizadas nesta dissertação permitiram concluir que a bucha vegetal funcionalizada com ágar bacteriológico como suporte para crescimento de biofilme, atuando como filtro biotecnológico, possui potencial para o tratamento do efluente de lavagem da indústria de biodiesel. Em relação aos testes de demanda química e bioquímica de oxigênio, parâmetros fundamentais para análises ambientais no campo da poluição hídrica, foram observadas diminuições significativas nos valores ao final dos tratamentos, quando comparados com os resultados do efluente bruto.

O objetivo principal dos experimentos foi determinar quais os efeitos de diferentes massas de biofiltro e tempos de tratamento na eficiência do tratamento do efluente de biodiesel.

Ao longo das análises experimentais, as análises estatísticas de variância e teste de médias de Tukey ao nível de 5% de significância permitiram concluir que o tempo de tratamento é determinante na redução da DQO. Na maioria dos ensaios de massa de biofiltro, sendo os de 1,0; 2,0 e $4,0 \pm 0,1$ g, envolvendo os diferentes períodos de tratamento testados (6, 12 e 24 horas), o tempo de 24 horas mostrou os menores resultados de DQO, isto é, o tempo mais longo testado apresentou quantitativamente a maior eficiência de redução de DQO.

Além disso, observou-se que o tempo de 12 horas manifestou em média, entre os três períodos analisados, os maiores resultados de DQO final, o que pode ter expressado um momento de estabilização da degradação da matéria orgânica biodegradável e não biodegradável, além de um pico do crescimento microbiano (fase estacionária). Para corroborar a possível influência do tempo de tratamento na melhoria da eficiência do processo, é válido que outros períodos mais longos sejam avaliados.

Em se tratando das massas de biofiltro, os resultados de DQO não apresentaram diferenças estatisticamente significantes nos períodos de 6 e 12 horas. No tempo de 24 horas, foi possível observar uma diferença estatística somente entre as massas de 2,0 e $3,0 \pm 0,1$ g, nas quais a massa de $2,0 \pm 0,1$ g demonstrou um resultado de DQO inferior aos demais. O tratamento ótimo de DQO, portanto, foi o que combinou a massa de $2,0 \pm 0,1$ g no tempo de 24 horas.

O fato de uma massa menor ter apresentado uma eficiência de tratamento superior pode estar associado à facilidade do biofilme de ser formado em superfícies menos extensas em função dos tempos escolhidos para experimentação. Pode ser que tratamentos mais duradouros apresentem resultados mais eficazes em termos de redução de DQO em massas de biofiltro maiores como as de 4,0 g.

A análise dos tempos de tratamento possibilitou concluir que o período de 12 horas foi o mais eficiente na redução de DBO, uma vez que apresentou os menores resultados em todas as massas de biofiltro avaliadas. Este resultado pode estar atrelado a um período de maior intensidade na atividade microbológica, no qual foram obtidas maiores taxas de degradação da matéria orgânica.

No entanto, a avaliação das massas de biofiltro não permitiu determinar qual massa apresentou a melhor performance em termos de redução de DBO, visto que cada período de tratamento manifestou uma conclusão distinta.

É válido lembrar que na grande maioria dos ensaios realizados, os controles do microrganismo inoculado manifestaram valores de DQO e DBO superiores aos seus comparativos. Isto pode indicar que a bactéria da espécie *Shewanella amazonensis* favoreceu os tratamentos na redução de ambos os parâmetros analisados. A exploração desta espécie em trabalhos futuros que envolvam o tratamento de efluentes com altas cargas orgânicas é recomendada.

A relação entre as eficiências de redução de DQO e DBO encontradas nos experimentos permite deduzir, em virtude das performances de DBO terem apresentado porcentagens superiores às de DQO na maioria dos ensaios, que o efluente possui uma alta carga orgânica biodegradável, na qual os microrganismos presentes nos tratamentos agiram de maneira eficiente. Devido à composição química do mesmo ser composta por uma série de substâncias de outras naturezas, atribui-se o valor de DQO do efluente bruto à uma grande quantidade de matéria orgânica não biodegradável.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A pesquisa aqui desenvolvida sugere que possíveis trabalhos futuros afins sejam executados, abordando os seguintes tópicos:

- Analisar a toxicidade aguda do efluente gerado após tratamento com o biofiltro de bucha vegetal;
- Promover a ativação bioeletroquímica do biofiltro com o objetivo de acelerar o processo de formação do biofilme e avaliar os resultados de DQO e DBO em função da redução do tempo;
- Explorar a eficiência do processo quanto a outros parâmetros típicos do tratamento de efluentes industriais, tais como os listados na Resolução CONAMA nº 430/2011: inorgânicos, pH, temperatura, sólidos flutuantes, materiais sedimentáveis, óleos e graxas etc.;
- Executar ensaios de tratamento com outros microrganismos eletrogênicos ou utilizando co-culturas para avaliar os efeitos da degradação microbiológica sob o substrato de biodiesel;
- Avaliar os parâmetros de DQO e DBO em tempos de tratamento mais longos (48 horas, 72 horas, 96 horas, 120 horas...) com o objetivo de verificar o comportamento da carga química do efluente;
- Implementar o biofiltro formado por bucha vegetal como eletrodo de uma célula a combustível microbiana, com o objetivo de avaliar estímulos eletroquímicos sobre o biofilme formado nas superfícies das fibras, a quantidade de energia elétrica gerada pelos microrganismos etc.;
- Caracterizar o biofilme formado após os ensaios de tratamento por meio da técnica de microscopia de força atômica.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APHA - *American Public Health Association*. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington, 2012.

ABDEL-FATTAH, H. K. et al. A comparative study for hybrid UASB reactor performance using polyethylene media and luffa sponge as biofilm support. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, v. 20, n. 2, p. 749–756, 1 dez. 2022.

ALI, M. N. et al. Pilot-scale study based on integrated fixed-film activated sludge process for cement industrial wastewater treatment. *Journal of Degraded and Mining Lands Management*, v. 9, n. 1, p. 3073–3081, 2021.

ALMOMANI, F. A.; ÖRMECI, B.; KIELY, P. Improving the Performance of Attached-Growth Wastewater Treatment Processes by Altering the Support Media Surface. *Journal of Environmental Engineering*, v. 145, n. 8, ago. 2019.

ANASTOPOULOS, I.; PASHALIDIS, I. Environmental applications of Luffa cylindrica-based adsorbents. *Journal of Molecular Liquids*. Elsevier B.V., , 1 dez. 2020.

ATADASHI, I. M. et al. Refining technologies for the purification of crude biodiesel. *Applied Energy*. Elsevier Ltd, , 2011.

BORGES CORDEIRO, R. et al. Purificação e reutilização de águas residuárias da produção de biodiesel por meio da eletrofloculação. *Revista Brasileira de Gestão Ambiental e Sustentabilidade*, v. 2, n. 2, p. 51–58, 2015.

BORRALHO, M.; PARDAL, A.; COELHO, S. Wastewater treatment of biodiesel production using persulphate ion as an oxidant. *Millenium - Journal of Education, Technologies, and Health*, n. 8, p. 21–27, 31 jan. 2019.

CHAVALPARIT, O.; ONGWANDEE, M. Optimizing electrocoagulation process for the treatment of biodiesel wastewater using response surface methodology. *Journal of Environmental Sciences*, v. 21, n. 11, p. 1491–1496, 2009.

DA ROCHA, D. C. et al. Selection of Microorganisms Producer of Lipase for Fat Removal from Biodiesel Purification Water. *Engenharia Agrícola*, v. 33, n. 2, p. 332–340, abr. 2010.

D'ALMEIDA, A. L. F. S. et al. Acetilação da Fibra de Bucha (*Luffa cylindrica*). *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 15, p. 59–62, 2005.

DANG, H. T. T. et al. Loofah sponges as bio-carriers in a pilot-scale integrated fixed-film activated sludge system for municipal wastewater treatment. *Sustainability (Switzerland)*, v. 12, n. 11, 1 jun. 2020.

DAUD, N. M. et al. Production of biodiesel and its wastewater treatment technologies. **Process Safety and Environmental Protection**. Institution of Chemical Engineers, , 2015.

DE BONI, L. A. B. et al. Tratamento Físico-Químico da Água de Lavagem proveniente da Purificação do Biodiesel. *Tchê Química*, v. 4, n. 7, p. 41–50, jan. 2007.

DE SOUSA, J. T. et al. Nitrification in a Submerged Attached Growth Bioreactor using *Luffa cylindrica* as Solid Substrate. *African Journal of Biotechnology*, v. 7, n. 15, p. 2702–2706, 4 ago. 2008.

FERNANDES, W. V. et al. Avaliação da Remoção de Matéria Orgânica de Efluente de Tanque Séptico utilizando filtro anaeróbico preenchido com *Luffa cylindrica* como Meio de Suporte. *Revista Eletrônica de Gestão e Tecnologias Ambientais*, v. 3, p. 1–13, 2015.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia (UFLA)*, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

GARRETT, T. R.; BHAKOO, M.; ZHANG, Z. Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. *Progress in Natural Science*. Science Press, , 2008.

GUPTA, N.; PANDEY, P.; HUSSAIN, J. Effect of physicochemical and biological parameters on the quality of river water of Narmada, Madhya Pradesh, India. *Water Science*, v. 31, n. 1, p. 11–23, 2017.

HAAS, M. J.; BLOOMER, S.; SCOTT, K. Simple, High-Efficiency Synthesis of Fatty Acid Methyl from Soapstock. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 77, n. 4, p. 373–379, 2000.

HENINI, G. et al. Study of static adsorption system phenol / *Luffa cylindrica* fiber for industrial treatment of wastewater. *Energy Procedia. Anais...Elsevier BV*, 2012a.

HENINI, G. et al. Study of static adsorption system phenol / *Luffa cylindrica* fiber for industrial treatment of wastewater. *Energy Procedia. Anais...Elsevier BV*, 2012b.

HIDENO, A. et al. Acetylation of loofa (*Luffa cylindrica*) sponge as immobilization carrier for bioprocesses involving cellulase. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 103, n. 4, p. 311–317, abr. 2007.

IGHALO, J. O. et al. Evaluation of *Luffa Cylindrica* Fibers in A Biomass Packed Bed for The Treatment of Paint Industry Effluent Before Environmental Release. *European Journal of Sustainable Development Research*, v. 4, n. 4, p. em0132, 24 maio 2020a.

IGHALO, J. O. et al. Evaluation of *Luffa cylindrica* fibres in a biomass packed bed for the treatment of fish pond effluent before environmental release. *Sustainable Water Resources Management*, v. 6, n. 6, 1 dez. 2020b.

ISHAK, S.; KAMARI, A. A review of optimum conditions of transesterification process for biodiesel production from various feedstocks. *International Journal of Environmental Science and Technology*. Center for Environmental and Energy Research and Studies, , 1 maio 2019.

JAMAL KHAN, S. et al. Performance of suspended and attached growth MBR systems in treating high strength synthetic wastewater. *Bioresource Technology*, v. 102, n. 9, p. 5331–5336, maio 2011.

JARUWAT, P.; KONGJAO, S.; HUNSOM, M. Management of biodiesel wastewater by the combined processes of chemical recovery and electrochemical treatment. *Energy Conversion and Management*, v. 51, n. 3, p. 531–537, mar. 2010.

KERMANI, M. et al. Application of Moving Bed Biofilm Process for Biological Organics and Nutrients Removal from Municipal Wastewater. *American Journal of Environmental Sciences*. [s.l: s.n.].

KOLESÁROVÁ, N. et al. Utilization of Biodiesel by-Products for Biogas Production. *Journal of biomedicine & biotechnology*, p. 1–15, 2011.

KÖYMEN KESER, İ.; DEVECİ KOCAKOÇ, İ.; ŞEHİRLİOĞLU, A. K. A New Descriptive Statistic for Functional Data: Functional Coefficient Of Variation. *Alphanumeric Journal*, v. 4, n. 2, 23 set. 2016.

LAIDANI, Y.; HANINI, S.; HENINI, G. Use of fiber *Luffa cylindrica* for waters traitement charged in copper. Study of the possibility of its regeneration by desorption chemical. *Energy Procedia. Anais...Elsevier Ltd*, 2011.

LOVATO, G. et al. Effect of feed strategy on methane production and performance of an AnSBBR treating effluent from biodiesel production. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 166, n. 8, p. 2007–2029, abr. 2012.

MCFARLAND, J. The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. In: Campbell, H.D. et al. (Eds.). *Journal of the American Medical Association*, 14: 1176-1178, 1907.

MCQUARRIE, J. P.; BOLTZ, J. P. Moving Bed Biofilm Reactor Technology: Process Applications, Design, and Performance. *Water Environment Research*, v. 83, n. 6, p. 560–575, jun. 2011.

MMA, S. et al. Biodiesel washwater reuse using microfiltration: toward zero-discharge strategy for cleaner and economized biodiesel production Biodiesel wash-water reuse using microfiltration: toward zero-discharge strategy for cleaner and economized biodiesel production. Jaber et al. / *Biofuel Research Journal*. [s.l: s.n.].

MOZAFFARIKHAH, K. et al. Membrane treatment of biodiesel wash-water: A sustainable solution for water recycling in biodiesel production process. *Journal of Water Process Engineering*, v. 19, p. 331–337, 1 out. 2017.

MYBURGH, D. P. et al. Removal of COD from Industrial Biodiesel Wastewater Using an Integrated Process: Electrochemical-Oxidation with IrO₂-Ta₂O₅/Ti Anodes and Chitosan Powder as an Adsorbent. *Environmental Processes*, v. 6, n. 4, p. 819–840, 15 dez. 2019.

NGAMLERDPOKIN, K. et al. Remediation of biodiesel wastewater by chemical- and electro-coagulation: A comparative study. *Journal of Environmental Management*, v. 92, n. 10, p. 2454–2460, out. 2011.

NGUYEN, T. T. et al. Effects of sponge size and type on the performance of an up-flow sponge bioreactor in primary treated sewage effluent treatment. *Bioresource Technology*, v. 101, n. 5, p. 1416–1420, 2010.

- NNAJI, P. C. et al. Potential of *Luffa cylindrica* seed as coagulation-flocculation (CF) agent for the treatment of dye wastewater: Kinetic, mass transfer, optimization and CF adsorption studies. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 15, n. 2, 1 fev. 2022.
- ONIYA, O. O.; BAMGBOYE, A. I. Performance of a stationary diesel engine using loofah (*Luffa cylindrica*, L.) biodiesel. *International Journal of Sustainable Energy*, v. 35, n. 6, p. 513–522, 2 jul. 2016.
- PALLI, L. et al. Treatment of NSAPs-rich petrochemical wastewaters using a two-stage combined process of fungi and activated sludge. *Environmental Technology (United Kingdom)*, v. 42, n. 24, p. 3783–3796, 2021.
- PALOMINO-ROMERO, J. A. et al. Tratamentos dos Efluentes gerados na Produção de Biodiesel. *Quim. Nova*, v. 35, n. 2, p. 367–378, 2012.
- PANNEERDHASS, R.; GNANAVELBABU, A.; RAJKUMAR, K. Mechanical properties of luffa fiber and ground nut reinforced epoxy polymer hybrid composites. *Procedia Engineering. Anais...Elsevier Ltd*, 2014.
- PEREIRA, E. L.; BORGES, A. C.; DA SILVA, G. J. Effect of the Progressive Increase of Organic Loading Rate in an Anaerobic Sequencing Batch Reactor for Biodiesel Wastewater Treatment. *Water (Switzerland)*, v. 14, n. 2, 1 jan. 2022.
- PIMENTEL-GOMES, F.; COUTO, H. T. Z. O Tamanho Ótimo de Parcela Experimental para Ensaios com Eucaliptos. *Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais*, v. 31, p. 75–77, dez. 1985.
- PITAKPOOLSIL, W.; HUNSOM, M. Treatment of biodiesel wastewater by adsorption with commercial chitosan flakes: Parameter optimization and process kinetics. *Journal of Environmental Management*, v. 133, p. 284–292, 15 jan. 2014.
- QIN, L. et al. Microalgae consortia cultivation in dairy wastewater to improve the potential of nutrient removal and biodiesel feedstock production. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 23, n. 9, p. 8379–8387, 1 maio 2016.
- RAMÍREZ, X. M. V. et al. Wastewater treatment from biodiesel production via a coupled photo-Fenton-aerobic sequential batch reactor (SBR) system. *Water Science and Technology*, v. 66, n. 4, p. 824–830, 2012.

- RUIZ-MARÍN, A. et al. Assessment of *Luffa cylindrica* as support in biofilms reactors for the biological treatment of domestic wastewater. *Water, Air, and Soil Pollution*, v. 199, n. 1–4, p. 13–21, maio 2009.
- SAEED, A.; IQBAL, M. Loofa (*Luffa cylindrica*) sponge: Review of development of the biomatrix as a tool for biotechnological applications. *Biotechnology Progress*, v. 29, n. 3, p. 573–600, maio 2013.
- SANTOS, R. P. A. DOS et al. Tratamento Eletroquímico de Efluente de Biodiesel usando Ânodos Dimensionalmente Estáveis. *Blucher Chemistry Proceedings*, v. 3, n. 1, p. 765–773, 2015.
- SARATALE, G. D. et al. Fixed-bed decolorization of Reactive Blue 172 by *Proteus vulgaris* NCIM-2027 immobilized on *Luffa cylindrica* sponge. *International Biodeterioration and Biodegradation*, v. 65, n. 3, p. 494–503, jun. 2011.
- SASSI, P. G. P. et al. Cultivation of freshwater microalgae in biodiesel wash water. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 24, n. 22, p. 18332–18340, 1 ago. 2017.
- SHIRAZI, M. M. A. et al. Characterization of electrospun polystyrene membrane for treatment of biodiesel's water-washing effluent using atomic force microscopy. *Desalination*, v. 329, p. 1–8, 15 nov. 2013.
- SRIRANGSAN, A.; ONGWANDEE, M.; CHAVALPARIT, O. Treatment of Biodiesel Wastewater by Electrocoagulation Process. *Environment Asia*, v. 2, n. 2, p. 15–19, 2009.
- STROPARO, E. C.; MOLLINARI, K. C.; DE SOUZA, K. V. Use of chitosan in the remediation of water from purification of biodiesel. *Polimeros*, v. 28, n. 5, p. 400–405, 2018.
- SUEHARA, K. I. et al. Biological treatment of wastewater discharged from biodiesel fuel production plant with alkali-catalyzed transesterification. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 100, n. 4, p. 437–442, 2005.
- SUKKASEM, C. et al. Upflow bio-filter circuit (UBFC): Biocatalyst microbial fuel cell (MFC) configuration and application to biodiesel wastewater treatment. *Bioresource Technology*, v. 102, n. 22, p. 10363–10370, nov. 2011.
- TANATTI, N. P.; ŞENGİL, I. A.; ÖZDEMİR, A. Optimizing TOC and COD removal for the biodiesel wastewater by electrocoagulation. *Applied Water Science*, v. 8, n. 2, 1 maio 2018.

TAVARES, J. et al. Tratamento Aeróbio de Esgotos Domésticos utilizando Bucha Vegetal (*Luffa Cylindrica*) como Suporte para Biomassa Imobilizada. *Revista Tecnologia e Tendências*, v. 8, n. 1, p. 39–48, jun. 2009.

THAKUR, S.; DAS, B. Performance evaluation of microbial fuel cell with sewage wastewater and RO concentrate using composite anode made of *Luffa aegyptiaca*. *Environmental Progress and Sustainable Energy*, v. 40, n. 1, 1 jan. 2021.

TRAFIMOW, D. On teaching about the coefficient of variation in introductory statistics courses. *Teaching Statistics*, v. 36, n. 3, p. 81–82, 2014.

U.S. Energy Information Administration (2015). *Annual energy outlook 2015*: Office of integrated and international energy analysis 1:1–244. Disponível em: <<https://www.nrc.gov/docs/ML1617/ML16172A121.pdf>>. Acesso em: 11 dez. 2022.

VIANNA, M. R.; DE MELO, G. C. B. Use of dehydrated peeled fruit of *luffa cylindrica* as support medium in biological trickling filters: Analysis of performance regarding the reduction of the organic content and microbiologic considerations. *Engenharia Sanitaria e Ambiental*, v. 24, n. 1, p. 13–20, 1 jan. 2019.

WANG, Y. et al. Comparison of *luffa* cylindrical sponge and plastic sponge as carriers in sequencing batch biofilm reactor for sewage treatment. *Advanced Materials Research. Anais...*2012.

WAQAS, S. et al. Recent progress in integrated fixed-film activated sludge process for wastewater treatment: A review. *Journal of Environmental Management. Academic Press*, , 15 ago. 2020.

YANG, Y. et al. Influence of bed materials on methanogenic characteristics and immobilized microbes in anaerobic digester. *Materials Science and Engineering C*, v. 24, n. 3, p. 413–419, 1 abr. 2004.

YUAN, Y. et al. Nanostructured macroporous bioanode based on polyaniline-modified natural loofah sponge for high-performance microbial fuel cells. *Environmental Science and Technology*, v. 47, n. 24, p. 14525–14532, 17 dez. 2013.

ZHANG, L.; SUN, K.; HU, N. Degradation of organic matter from domestic wastewater with loofah sponge biofilm reactor. *Water Science and Technology*, v. 65, n. 1, p. 190–195, 2012.