

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANEAMENTO,
MEIO AMBIENTE E RECURSOS HÍDRICOS

ESTRATÉGIAS OPERACIONAIS EM
BIORREATORES PARA PÓS-TRATAMENTO DE
EFLUENTE ANAERÓBIO: ÊNFASE NA REMOÇÃO
DE METANO, SULFETO E NITROGÊNIO AMONÍACAL

Cássia Cabral e Souza

Belo Horizonte

2020

Cássia Cabral e Souza

**ESTRATÉGIAS OPERACIONAIS EM
BIORREATORES PARA PÓS-TRATAMENTO DE
EFLUENTE ANAERÓBIO: ÊNFASE NA REMOÇÃO
DE METANO, SULFETO E NITROGÊNIO AMONÍACO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito à obtenção do título de Doutora em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos.

Área de concentração: Saneamento

Linha de pesquisa: Tratamento de águas residuárias

Orientadora: Juliana Calábria de Araújo

Belo Horizonte

Escola de Engenharia da UFMG

2020

S729e

Souza, Cássia Cabral e.

Estratégias operacionais em biorreatores para pós-tratamento de efluente anaeróbio [recurso eletrônico]: ênfase na remoção de metano, sulfeto e nitrogênio amoniacal / Cássia Cabral e Souza. – 2020.
1 recurso online (xiii, 158 f.: il., color.) : pdf.

Orientadora: Juliana Calábria de Araújo.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharia.

Apêndice: f. 156-158.

Bibliografia: f. 140-155.

Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.

1. Engenharia sanitária - Teses. 2. Bactérias anaeróbias – Teses.
3. Biorreatores – Teses. 4. Nitrificação – Teses. I. Araújo, Juliana Calábria. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Engenharia. III. Título.

CDU: 628(043)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Escola de Engenharia
Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos
Avenida Antônio Carlos, 6627 - 4º andar - 31270-901 - Belo Horizonte – BRASIL
Telefax: 55 (31) 3409-1882 - posgrad@desa.ufmg.br
<http://www.smarh.eng.ufmg.br>

FOLHA DE APROVAÇÃO

Estratégias operacionais em biorreatores para pós-tratamento de efluente anaeróbio:
ênfase na remoção de metano, sulfeto e nitrogênio amoniacal

CÁSSIA CABRAL E SOUZA

Tese defendida e aprovada pela banca examinadora constituída pelos Senhores:

Profª JULIANA CALÁBRIA DE ARAÚJO - Orientadora

Prof. MARCOS VON SPERLING

Prof. CLÁUDIO LEITE DE SOUZA

Profª. SILVANA DE QUEIROZ SILVA

Profª. MÁRCIA HELENA RISSATO ZAMARIOLLI DAMIANOVIC

Aprovada pelo Colegiado do PG SMARH

Versão Final aprovada por

Profª Sonaly Cristina Rezende Borges de Lima
Coordenadora do Programa de Pós-graduação em
Saneamento Meio Ambiente e Recursos Hídricos da UFMG

Profª. Sonaly Cristina Rezende Borges de Lima
Coordenadora

Profª. Juliana Calábria de Araújo
Orientadora

Belo Horizonte, 17 de novembro de 2020.

*Ao meu pai Olímpio Gomes e minha
mãe Maria do Carmo Cabral.*

AGRADECIMENTOS

Sou só grato por tudo que passei, busquei, plantei e que colhi. Sinto que tudo foi como deveria ter sido. Percorrer esta trajetória, chegar até aqui só foi possível porque vim de mãos dadas. E quantas mãos me foram dadas!

À Universidade Federal de Minas Gerais.

À Profa. Juliana Calábria de Araújo pela orientação, compreensão, disponibilidade contínua e sempre que requisitada.

Ao Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental e professores/professoras competentes.

Às meninas do Laboratório de Microbiologia do DESA. Ah, meninas! Como vocês foram importantes nesse processo. Pelas experiências trocadas, conversas, lanches e risadas. Às queridas Alessandra, Alyne, Adriana, Brenda, Bruna, Cíntia, Elayne, Deborah, Josiane e Lariza. Aos ICs que estiveram no laboratório nessa jornada: Amanda, Francis, Helena e Hortência.

Aos/as companheiros/as de CePTS por compartilharmos experiências. Em especial à amiga Camila Trein.

Ao Sr. Raimundo que prestou todo suporte necessário com os reatores. Ao Gabriel Tadeu pela ajuda sem medida nos reparos e assistência. Ambos com quem pude contar durante minha licença maternidade.

Ao técnico Gabriel pelo auxílio nas análises físico-químicas.

À Suzi pela disponibilidade, paciência e organização das nossas idas ao CePTS.

Às alunas de IC: Ana Luisa Lopes, Larissa Bastos e Camila Somaggio. E um agradecimento especial a Thais Costa, Débora Leão, Ana Luiza Khan e Thales Basílio que deram todo suporte na pesquisa durante minha gestação e licença maternidade.

Às professoras Sonaly e Fabiana pela empatia e apoio.

À Ananda Sanson e Professor Robson de Cássia da UFOP pela parceria e auxílio nas análises de cromatografia líquida de alta performance.

Ao INCT ETEs Sustentáveis pelo suporte financeiro.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa.

Ao meu amado pai Olímpio Gomes e minha amada mãe Maria do Carmo Cabral. Agradecimento eterno pelo amor sem medida, incentivo e esforço (muito esforço) para que eu pudesse chegar até aqui. Mãe, obrigada por não me deixar desistir na reta final!

Às minhas irmãs Júnia, Júlia e Carolina - meu elo de amor, força e carinho. Aos meus sobrinhos Eduardo, Pedro, César e Antônio pelas alegrias.

À minha querida Tia Naná (*in memoriam*) que tanto torceu por mim mesmo não sabendo em que ‘empreitada’ eu estava entrando. Infelizmente não mais presente para vivenciar minha “formatura” que tanto esperava. Jamais deixarei de lembrar que fez parte dessa vitória, minha segunda mãe!

Ao meu companheiro Natan Barros. Você que foi mais que marido. Apoiou e não me deixou desistir. Nós que enfrentamos cada dia juntos, cada dificuldade, cada sorriso, cada vitória e que atravessamos o contexto do estresse da pandemia com todas as nossas demandas diárias da melhor forma que conseguimos. Por tudo isso este trabalho dependeu. Por tudo isso eu também consegui.

À minha doce Clarice.

À toda luz e proteção divina.

RESUMO

Os sistemas anaeróbios de tratamento de esgotos, como os reatores UASB, são considerados uma das tecnologias mais adotadas em países com condições climáticas favoráveis como o Brasil. Apesar de oferecerem inúmeras vantagens, permanecem no efluente tratado os gases metano (CH_4) e sulfeto (H_2S), e nitrogênio amoniacal (NH_3). Portanto, de modo a atender os padrões de lançamento e minimizar possíveis impactos ambientais, o efluente anaeróbio necessita de pós-tratamento. Assim, este trabalho avaliou o desempenho de biorreatores para pós-tratamento de efluente de reator UASB, tratando esgoto doméstico, sob distintas condições operacionais para remoção de CH_4 , H_2S e NH_3 . Para isso, foram operados 2 reatores: R-controle e R-ar na Etapa 1 e R-controle e R-inóculo na Etapa 2. Na Etapa 1 avaliou-se os efeitos da microaeração e da luz solar em duas fases, de acordo com o tempo de detenção hidráulica (TDH), sendo fase 1 TDH 6h e fase 2 TDH 3h. A Etapa 2 consistiu na avaliação dos efeitos da aeração intermitente (AI), ausência de luz e inoculação de lodo ativado, lodo anaeróbio e anammox, com TDH 6h. Esta Etapa foi dividida em três fases de acordo com as estratégias de aeração, a saber: *2'on/14'off*, *7'on/14'off* e *21'on/14'off*. Os resultados da Etapa 1 apontaram maior eficiência de remoção de CH_4 e H_2S no R-ar da fase 1. As eficiências de remoção de CH_4 foram 31% e 55% e de H_2S iguais a 61% e 79% para R-controle e R-ar, respectivamente. Na fase 2 a remoção de CH_4 não ocorreu e as eficiências de remoção de H_2S foram 22% (R-controle) e 33% (R-ar). A oxidação completa do sulfeto a sulfato prevaleceu em ambos os reatores e fases, mas a formação de enxofre elementar foi maior no TDH 6h. Os resultados apontaram que a luz e a microaeração contínua favoreceram a oxidação biológica do CH_4 e H_2S . Tais resultados foram confirmados pela presença de bactérias sulfurosas e não sulfurosas, e metanotróficas, detectadas por sequenciamento de nova geração (SNG). A nitrificação não ocorreu em ambos os biorreatores e fases devido ausência de micro-organismos nitrificantes. Na Etapa 2, as condições testadas (ciclos de AI e concentrações de OD) não foram suficientes para a ocorrência da nitrificação nas fases testadas, tanto no R-controle quanto no R-inóculo. O H_2S foi oxidado em ambos os biorreatores com eficiência igual a 42% no R-controle e 36% no R-inóculo. Em suma, os biorreatores, nas condições testadas, foram eficientes para remoção dos gases metano e sulfeto do efluente de reator UASB tratando esgoto doméstico, mas não removeram nitrogênio amoniacal.

Palavras-Chave: Microaeração, Aeração intermitente, Bactérias sulfurosas e não sulfurosas, Bactérias metanotróficas, Nitrificação, Efluente anaeróbio.

ABSTRACT

Anaerobic sewage treatment systems, such as UASB reactors, are one of the most used technologies in warm countries such as Brazil. Despite having lots of advantages, these reactors have some limitations such as methane (CH_4) and sulfide (H_2S) dissolved in the effluent and no nitrogen ammoniacal (NH_3) removal. In this context, the effluents from anaerobic reactors usually require a post-treatment step to meet the discharge limits of environmental legislation and protect the water bodies. This study aims to evaluate the performance of two bioreactors: R-control and R-air in stage 1 and R-control and R-inoculum in stage 2 to post treat UASB effluent, treating domestic wastewater. The experiment was divided into two stages. In stage 1 was evaluated the effects of microaeration and sunlight in two phases (HRT 6h phase 1 and HRT 3h phase 2). In the stage 2 different intermittent aeration strategies (2min *on*/14min *off*, 7min *on*/14min *off* e 21min *on*/14min *off*), absence of light and inoculation were evaluated. In stage 1 large H_2S and CH_4 removal efficiencies were achieved by the microaerated reactor at HRT of 6 h. At this HRT, H_2S removal efficiencies were equal to 61% and 79%, and CH_4 removal efficiencies were 31% and 55% for R-control and R-air, respectively. At an HRT of 3 h, H_2S removal efficiencies were 22% (R-control) and 33% (R-air) and CH_4 removal did not occur. The complete oxidation of sulfide, with sulfate formation, prevailed in both phases and bioreactors. However, elemental sulfur formation was more predominant at an HRT of 6 h than at an HRT of 3 h. The results pointed that sunlight and microaeration favored biological methane and sulfur removal. Microbial community analysis confirmed by next generation sequencing (NGS) that the bacteria involved in the biological removal of methane (methanotrophic bacteria) and sulfide (sulfur and non sulfur bacteria) were present in the bioreactors. Nitrification did not occur in the bioreactors in both phases due absence of microorganisms in the nitrogen cycle. In the stage 2 the different intermittent aeration strategies and low dissolved oxygen concentrations did not contribute to nitrification in both bioreactors. Sulfide removal efficiencies were 42% in R-control and 36% in R-inoculum.

Key words: Microaeration, Intermittent aeration, Sulfur and non sulfur bacteria, Methanotrophic bacteria, Nitrification, Anaerobic effluent.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 – Fluxograma do metabolismo de utilização do metano pelas metanotróficas	12
Figura 2.2 – Relações filogenéticas de metanotróficas criadas com base na sequência do gene 16sRNA.....	14
Figura 2.3 – Ciclo biológico do enxofre.....	17
Figura 2.4 – Ciclo biológico do nitrogênio.....	22
Figura 2.5 – Interação entre os ciclos biológicos do carbono, enxofre e nitrogênio.....	24
Figura 2.6 – Árvore filogenética baseada nas sequências do rRNA 16S mostrando a relação de ANME.....	25
Figura 2.7 – Representação esquemática de um sistema combinado N-damo/anammox ...	27
Figura 2.8 – Terminologia para dosagem de ar/oxigênio baseada na quantidade de oxigênio dosado.....	32
Figura 2.9 – Possíveis vias para remoção/recuperação de nitrogênio de esgoto tratado anaerobicamente.....	60
Figura 6.1 – Esquema experimental da pesquisa estruturada em 2 etapas e suas respectivas fases.....	69
Figura 6.2 – A – Sistema acoplado UASB seguido dos biorreatores, sendo R1 o reator controle (R-controle) e R2 o reator com alterações (R-ar/inóculo) nas Etapas 1 e 2.....	71
Figura 6.3 – Biorreatores construídos em material transparente evidenciando perfurações no cesto inox destinado a colocação de meio suporte (seta vermelha) e fundo cônico (seta azul).....	72
Figura 6.4 – Anel de polipropileno usado como meio suporte para crescimento microbiano.....	72
Figura 6.5 – Relação de consumo oxigênio/sulfeto e os principais produtos da oxidação do sulfeto.....	74
Figura 6.6 – Dispositivos utilizados para microaeração. A: Bomba de aquário e controlador de ar, B: seringa esmerilhada para medição de vazão de ar, C: mangueira perfurada alocada no fundo do cesto inox.....	75
Figura 6.7 – Ponto de coleta para análise de gases dissolvidos e demais parâmetros.....	77
Figura 7.1 – Box-plot das concentrações medianas de metano no efluente do reator UASB, R-controle (sem microaeração) e R-ar (com microaeração) nas fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1.....	88
Figura 7.2 – Box-plot da eficiência de remoção de metano dissolvido nos biorreatores (R-controle: sem microaeração, R-ar: com microaeração) na fase 1 (TDH 6h) da Etapa 1.....	89
Figura 7.3 – Taxa e eficiência de remoção de metano dissolvido nos biorreatores (R-controle: sem microaeração, R-ar: com microaeração) nas fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h).....	90
Figura 7.4 – Box-plot das concentrações medianas efluente de sulfeto no efluente do reator UASB, R-controle (sem microaeração) e R-ar (com microaeração) nas fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1.....	91
Figura 7.5 – Taxa e eficiência de remoção de sulfeto dissolvido nos biorreatores (R-controle: sem microaeração, R-ar: com microaeração) nas fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1.....	92
Figura 7.6 – Box-plot da eficiência de remoção de sulfeto dissolvido nos biorreatores (R-controle: sem microaeração, R-ar: com microaeração) nas fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1.....	93

Figura 7.7 – Diagrama de Pourbaix (pH-Eh) para espécies de enxofre estáveis em solução aquosa (25 °C, 1 bar total pressure) em relação ao pH e pOR	95
Figura 7.8 – Box-plot das concentrações medianas de sulfato no efluente do reator UASB, R-controle (sem microaeração) e R-ar (com microaeração) nas fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1	96
Figura 7.9 – Percentuais relativos às espécies de enxofre formadas nos biorreatores R-controle (sem microaeração) e R-ar (com microaeração) em relação às frações afluente, nas fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1	97
Figura 7.10 – Concentrações medianas de nitrogênio amoniacal no efluente do reator UASB, R-controle (sem microaeração) e R-ar (com microaeração) nas fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1	100
Figura 7.11 – Concentração de DQO total no efluente do reator UASB e biorreatores (R-controle: sem microaeração, R-ar: com microaeração), nas fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1	102
Figura 7.12 – Box-plot das concentrações medianas de SST no efluente do reator UASB, R-controle (sem microaeração) e R-ar (com microaeração) nas fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1	103
Figura 7.13 – Box-plot da eficiência de remoção de SST nos biorreatores (R-controle: sem microaeração, R-ar: com microaeração) nas fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1... ..	104
Figura 7.14 – Abundância relativa dos principais filos (>1%) detectados nas amostras estudadas.	106
Figura 7.15 – Gêneros de bactérias não sulfurosas púrpuras e verdes detectados nas amostras estudadas.....	117
Figura 7.16 – Box-plot das concentrações medianas de sulfeto no efluente do reator UASB, R-controle (sem inoculação) e R-inóculo (com inoculação) nas fases da Etapa 2.....	132
Figura 7.17 – Box-plot das concentrações medianas de sulfato no efluente do reator UASB, R-controle (sem inoculação) e R-inóculo (com inoculação) nas fases da Etapa 2.....	133

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Principais características dos três tipos bactérias metanotróficas (tipo I, II e X)	13
Tabela 2.2 – Resumo da classificação geral e características principais de metanotróficas aeróbias	15
Tabela 2.3 – Características e metabolismo de bactérias fototróficas	18
Tabela 2.4 – Resumo das principais rotas do ciclo do enxofre e respectivos gêneros envolvidos	21
Tabela 2.5 – Razões estequiométricas entre doadores e aceptores	29
Tabela 2.6 – Síntese dos processos envolvendo os ciclos dos componentes estudados (carbono, enxofre e nitrogênio), os principais grupos de micro-organismos envolvidos e energia livre de Gibbs	30
Tabela 2.7 – Características de reatores submetidos a aeração intermitente para remoção de compostos nitrogenados de efluente anaeróbio	37
Tabela 2.8 – Características principais de estudos abrangendo a remoção biológica de metano associada a compostos de enxofre e/ou nitrogênio	46
Tabela 2.9 – Estudos envolvendo processos biológicos para remoção de sulfeto em diferentes sistemas tratando efluente anaeróbio	54
Tabela 6.1 – Características do esgoto bruto afluente ao reator UASB	70
Tabela 6.2 – Principais características e dimensões dos reatores	72
Tabela 6.3 – Descrição das fases e condições operacionais nos biorreatores na Etapa 1... ..	75
Tabela 6.4 – Descrição das fases e condições operacionais nos biorreatores na Etapa 2... ..	76
Tabela 6.5 – Parâmetros monitorados, frequência e pontos de amostragem	82
Tabela 7.1 – Parâmetros monitorados no interior dos biorreatores (R-controle: sem microaeração, R-ar: com microaeração) na Etapa 1	85
Tabela 7.2 – Carga de sulfeto, eficiência de remoção de sulfeto (mediana) e razão entre enxofre elementar e sulfato formados em relação ao sulfeto afluente.	97
Tabela 7.3 – Número de sequências, UTOs e índices de diversidade Simpson, Chao1 e Shannon calculados para os biorreatores (R-c e R-ar) de amostras da biomassa aderida nos anéis e do lodo, nas duas fases (TDH 6h e 3h)	105
Tabela 7.4 – Abundância relativa (%) dos cinco principais filos observados nas amostras dos reatores (R-c e R-ar), nas fases 1 (TDH de 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1	108
Tabela 7.5 – Abundância relativa (%) dos gêneros de metanotróficas observados nas amostras dos reatores R-controle (R-c) e R-ar, nas fases 1 (TDH de 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1	110
Tabela 7.6 – Abundância relativa (%) dos gêneros de arqueias metanogênicas nas amostras dos reatores R-controle (R-c) e R-ar, nas fases 1 (TDH de 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1... ..	113
Tabela 7.7 – Abundância relativa (%) dos gêneros de bactérias fermentativas e acetogênicas nas amostras dos reatores R-controle (R-c) e R-ar, nas fases 1 (TDH de 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1 (com abundância >0,5% em pelo menos uma amostra)	114
Tabela 7.8 – Abundância relativa (%) dos gêneros de bactérias sulfurosas púrpura e verde nas amostras dos reatores R-controle (R-c) e R-ar, nas fases 1 (TDH de 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1	115

Tabela 7.9 – Abundância relativa (%) dos gêneros de bactérias não sulfurosas púrpuras e verdes nas amostras dos reatores R-controle (R-c) e R-ar, nas fases 1 (TDH de 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1.....	118
Tabela 7.10 - Abundância relativa (%) dos gêneros de bactérias redutoras de sulfato nas amostras dos reatores R-controle (R-c) e R-ar, nas fases 1 (TDH de 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1	121
Tabela 7.11 - Distribuição fisiológica e abundância de micro-organismos em nível de gênero, detectados nas amostras dos anéis e lodo dos biorreatores em ambas as fases da Etapa 1	123
Tabela 7.12 – Parâmetros monitorados no interior dos biorreatores (R-controle: sem inoculação, R-inóculo: com inoculação) na Etapa 2.....	128
Tabela 7.13 – Principais resultados obtidos em relação aos compostos nitrogenados nas fases estudadas da Etapa 2.	130
Tabela A.1 - Abundância relativa de todos os filamentos com abundância relativa superior a 1,0% encontrados nos reatores (controle, R-c e microaerado, R-ar), nas amostras da biomassa aderida nos anéis de polipropileno e lodo, fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1	154
Tabela A.2 - Abundância relativa de todos os filamentos com abundância relativa superior a 0,5% encontrados nos reatores (controle, R-c e microaerado, R-ar), nas amostras da biomassa aderida nos anéis de polipropileno e lodo, fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1	155

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Anammox	Oxidação Anaeróbia da Amônia (do inglês, <i>Anaerobic ammonium oxidation</i>)
ANME	Arquéias Anaeróbias Metanotróficas (do inglês, <i>Anaerobic methane-oxidizing archaea</i>)
BOA	Bactérias oxidadoras de amônia (do inglês, <i>Ammonium oxidizing bacteria</i>)
BON	Bactérias oxidadoras de nitrito (do inglês, <i>Nitrite oxidizing bacteria</i>)
BOS	Bactérias oxidadoras de sulfeto
BRS	Bactérias redutoras de sulfato
CePTS	Centro de Pesquisa e Treinamento em Saneamento
Comammox	Completa oxidação da amônia (do inglês, <i>Complete ammonium oxidation</i>)
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
COPAM	Conselho Estadual de Política Ambiental
COPASA	Companhia de Saneamento de Minas Gerais
CO₂	Dióxido de carbono
CH₄	Metano
DAMO	Oxidação anaeróbia do metano desnitrificante (do inglês, <i>Denitrifying anaerobic methane oxidation</i>)
DQO	Demanda química de oxigênio
DHS	Reator de fluxo descendente e esponja de suspensão (do inglês, <i>Downflow hanging sponge</i>)
DNA	Ácido desoxiribonucléico
EGSB	Reator anaeróbio de leito granular expandido
ETE	Estação de tratamento de esgotos
GEE	Gás de efeito estufa
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês, <i>High performance liquid chromatography</i>)
HS⁻	Sulfeto dissociado
H₂S	Sulfeto de hidrogênio
MBfR	Reator de biofilme de membrana
N₂	Nitrogênio gasoso
NH₃	Amônia livre
NH₄⁺	Nitrogênio amoniacal (amônia ionizada)
NO₂⁻	Nitrito
NO₃⁻	Nitrato
O₂	Oxigênio
OAM	Oxidação anaeróbia do metano
OD	Oxigênio dissolvido
ORP	Potencial de óxido-redução (do inglês, <i>Oxidation redox potential</i>)
PCR	Reação em cadeia da polimerase (do inglês, <i>Polimerase chain reaction</i>)
pH	Potencial hidrogeniônico
pOR	Potencial de óxido-redução
RBAM	Reator de biofilme aerado em membrana
RNA	Ácido ribonucléico
RNA 16S	Ácido ribonucleico ribossomal 16S
S⁰	Enxofre elementar
S²⁻	Sulfeto
S₂O₃²⁻	Tioossulfato
SO₄²⁻	Sulfato

SNG	Sequenciamento de nova geração
SST	Sólidos suspensos totais
SSV	Sólidos suspensos voláteis
ST	Sólidos totais
TDH	Tempo de detenção hidráulica
UASB	Reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (do inglês, <i>Upflow anaerobic sludge blanket</i>)
UTO	Unidade taxonômica operacional (do inglês, <i>Operational taxonomic unit</i>)
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
°C	Graus Celsius

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1	<i>A importância do pós-tratamento para remoção de metano, sulfeto e nitrogênio amoniacal.</i>	3
2.2	<i>O metano nos sistemas anaeróbios de tratamento de esgotos.</i>	5
2.3	<i>O enxofre nos sistemas anaeróbios de tratamento de esgotos.</i>	7
2.4	<i>O nitrogênio em sistemas anaeróbios de tratamento de esgoto.</i>	9
2.5	<i>Transformações biológicas dos elementos estudados.</i>	10
2.5.1	Ciclo biológico do carbono	10
2.5.2	Ciclo biológico do enxofre	16
2.5.3	Ciclo biológico do nitrogênio	21
2.5.4	Interação dos ciclos biológicos do carbono, enxofre e nitrogênio	24
2.5.4.1	Interação entre os ciclos biológicos do carbono e enxofre	25
2.5.4.2	Interação entre os ciclos do carbono e nitrogênio	26
2.5.4.3	Interação entre os ciclos do enxofre e nitrogênio	28
2.6	<i>Estratégias operacionais para tratamento de efluentes anaeróbios.</i>	32
2.6.1	Estratégias de aeração para tratamento de efluentes anaeróbios	32
2.6.1.1	Microaeração contínua	32
2.6.1.2	Aeração intermitente	35
2.6.2	Utilização da luz para tratamento de efluentes anaeróbios.	38
2.7	<i>Remoção biológica dos elementos estudados em sistemas de tratamento de esgotos</i>	40
2.7.1	Remoção biológica do metano	40
2.7.2	Remoção biológica do sulfeto	47
2.7.3	Remoção biológica de compostos nitrogenados.	56
2.7.4	Considerações sobre a remoção simultânea dos elementos estudados	59
3	SINTESE DA REVISÃO DE LITERATURA	64
4	PREMISSAS E HIPÓTESES DE INVESTIGAÇÃO	66
5	OBJETIVOS	67
5.1	<i>Objetivo geral</i>	67
5.2	<i>Objetivos específicos</i>	68
6	MATERIAL E MÉTODOS	68
6.1	<i>Descrição geral das Etapas da pesquisa e delineamento experimental.</i>	68

6.2	<i>Área de estudo</i>	70
6.3	<i>Descrição do aparato experimental</i>	70
6.4	<i>Descrição das Etapas da pesquisa</i>	73
6.4.1	Etapa 1 – Microaeração contínua/luz solar	73
6.4.2	Etapa 2 – Aeração intermitente/inoculação.....	75
6.5	<i>Amostragem e monitoramento</i>	76
6.5.1	Amostragem da fase líquida.....	76
6.5.2	Amostragem da fase sólida.....	77
6.6	<i>Parâmetros monitorados na fase líquida</i>	78
6.6.1	pH, potencial de oxidação redução, oxigênio dissolvido e temperatura	78
6.6.2	Demanda Química de Oxigênio (DQO).....	78
6.6.3	Série de Sólidos.....	78
6.6.4	Enxofre.....	78
6.6.4.1	Sulfeto dissolvido.....	78
6.6.4.2	Sulfato	79
6.6.4.3	Enxofre elementar	79
6.6.4.4	Eficiência do sistema e distribuição das espécies de enxofre.....	79
6.6.5	Série Nitrogenada.....	80
6.6.6	Alcalinidade	80
6.6.7	Metano.....	80
6.7	<i>Análise microbiológica</i>	82
6.7.1	Caracterização da comunidade microbiana.....	82
6.8	<i>Análise estatística</i>	84
7	RESULTADOS E DISCUSSÃO	84
7.1	<i>Efeito da microaeração no pós-tratamento de efluente de reator UASB em biorreatores (Etapa 1)</i>	84
7.1.1	Testes para microaeração no biorreator.....	84
7.1.2	Monitoramento de parâmetros com sonda multiparamétrica	85
7.1.3	Monitoramento do metano dissolvido.....	87
7.1.4	Monitoramento dos compostos sulfurosos	90
7.1.5	Monitoramento dos compostos nitrogenados.....	99
7.1.6	Monitoramento da matéria orgânica.....	101
7.1.7	Monitoramento dos sólidos suspensos	103
7.2	<i>Análise da diversidade microbiana pela técnica de seqüenciamento de nova geração (SNG) 104</i>	

7.2.1	Diversidade em nível de filo	106
7.2.2	Micro-organismos envolvidos no ciclo do carbono	109
7.2.2.1	Micro-organismos envolvidos nas rotas do metano	109
^R-c:	R-controle	113
7.2.2.2	Micro-organismos envolvidos na degradação da matéria orgânica.....	113
7.2.3	Grupos de micro-organismos envolvidos no ciclo do enxofre.....	114
7.2.4	Grupos de micro-organismos envolvidos no ciclo do nitrogênio.....	121
7.2.5	Resumo dos principais processos ocorrendo nos reatores em função da amostra (biofilme dos anéis e lodo) e do TDH.....	122
7.2.6	Conclusões dos resultados físico-químicos e SNG obtidos na Etapa 1 (microaeração contínua e luz solar)	126
7.3	<i>Efeito da aeração intermitente, ausência de luz e inoculação no pós-tratamento de efluente de reator UASB (Etapa 2)</i>	127
8	CONCLUSÕES GERAIS	136
9	RECOMENDAÇÕES.....	137
10	REFERÊNCIAS	138
	APÊNDICE	154

1 INTRODUÇÃO

O Brasil detém o maior parque de reatores anaeróbios do mundo, considerando-se a aplicação da tecnologia para o tratamento de esgoto sanitário (CHERNICHARO *et al.*, 2018a). A expansão da tecnologia anaeróbia no Brasil é consequência das pesquisas na área do saneamento, das condições climáticas favoráveis e das vantagens inerentes à mesma.

Reatores anaeróbios de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB – *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) são, dentre as tecnologias anaeróbias de alta taxa, uma das mais adotadas e têm crescido desde a sua introdução na década de 1980. No Brasil, representam a principal tendência atual de tratamento de esgotos com cerca de 40% das ETEs localizadas nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do país empregando tal sistema em seu fluxograma de tratamento (CHERNICHARO *et al.*, 2018b). Contribuem para expansão da adoção desta tecnologia a ausência de aeração, produção de um biogás rico em metano (possibilita a produção de energia), baixa demanda por área, custos reduzidos de construção e operação, dentre outras características (SILVA-TEIRA *et al.*, 2017; DAUD *et al.*, 2018).

Embora apresente inúmeras vantagens, o tratamento anaeróbio em reatores UASB é incapaz de remover completamente toda matéria orgânica presente no esgoto, o nitrogênio na forma de amônia, patógenos, além da presença indesejada de sulfeto e metano dissolvidos no efluente tratado (SOUZA *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2018). Dessa forma, o pós-tratamento do efluente proveniente de sistemas anaeróbios tratando esgoto doméstico se faz necessário. Esta etapa garante a qualidade do efluente no que se refere aos riscos à saúde pública, bem como pelos possíveis danos causados nos corpos receptores pelo lançamento de cargas remanescentes (CHERNICHARO, 2006). Ademais, a importância do pós-tratamento é fundamental para atender aos padrões de lançamento, em voga no país e no estado de Minas Gerais.

Diversos processos podem ser usados para pós-tratamento de efluente de reator UASB como biofiltro aerado, filtro anaeróbio, lodos ativados, lagos de polimento, dentre outros. Assim, tanto métodos físico-químicos (adição de coagulantes) quanto biológicos (aeróbio ou anaeróbio) podem ser adotados para tratamento do efluente antes do lançamento (VON SPERLING, 2016). Comparado com métodos físico-químicos, os processos biológicos são mais econômicos e podem ser operados em condições ambientais naturais, sem adição de produtos químicos e catalisadores caros e sem produção de lodo químico, sendo mais desejados em tratamento de esgotos (GUO *et al.*, 2016).

Um sistema de pós-tratamento do efluente de reator UASB em biorreatores foi empregado por nosso grupo de pesquisa (AZEVEDO *et al.*, 2018; GARCIA *et al.*, 2015; 2017). Um dos objetivos principais foi promover a oxidação biológica parcial do sulfeto dissolvido (H_2S) a enxofre elementar (S^0). Para tanto, os biorreatores foram operados em condições anaeróbias e presença de luz solar. Nestes estudos foram alterados os tempos de detenção hidráulica (TDHs) dos biorreatores, reduzindo de 24 até 2h, bem como investigado os efeitos da ausência e presença de distintos meios suporte (anéis de polipropileno e espuma de poliuretano) para imobilização dos micro-organismos.

Nos estudos supracitados, a oxidação biológica do sulfeto ocorreu primordialmente com formação de sulfato (SO_4^{2-}) em relação à formação de S^0 , por bactérias sulfurosas púrpuras e verdes através da fotossíntese anoxigênica. Garcia *et al.* (2017) observaram concentrações medianas de sulfeto variando entre 0,34 a 1,60 mgS.L^{-1} , sendo que maiores eficiências (90%) foram obtidas no TDH 12h. Azevedo *et al.* (2018) reportaram concentrações medianas de sulfeto efluente aos biorreatores entre 0,50 a 4,90 mgS.L^{-1} , e eficiência de remoção variando entre 52 até 92%. A carga de sulfeto aplicada aos biorreatores esteve relacionada ao desempenho no pós-tratamento. Embora as concentrações de sulfeto dissolvido no efluente dos biorreatores tenham sido inferiores às do efluente do reator UASB, nestes estudos em algumas condições os valores ainda foram maiores ao estabelecido para legislações vigentes (1 mgS.L^{-1}). Nestes estudos, não foi observada a remoção de nitrogênio amoniacal no pós-tratamento e a remoção de metano do efluente anaeróbio não foi investigada. Foram obtidas melhorias na qualidade do efluente em relação à demanda química de oxigênio (DQO) e sólidos suspensos totais (SST). As técnicas de biologia molecular empregadas nas pesquisas apontaram ampla diversidade microbiana nos biorreatores com potencial de realização de diferentes metabolismos como redução do nitrato, remoção de matéria orgânica, oxidação de metano e do sulfeto (AZEVEDO *et al.*, 2018; GARCIA *et al.*, 2015; 2017).

As pesquisas anteriores e o potencial dos biorreatores – considerados aparato experimental útil e de baixo custo para investigação e melhorias na remoção de diversos parâmetros, incitaram novas pesquisas para pós-tratamento biológico de efluente de reator UASB em condições de amostragem variadas. Assim, melhorias na oxidação biológica do H_2S , a remoção do CH_4 dissolvido e de nitrogênio amoniacal podem contribuir para minimizar limitações do tratamento anaeróbio em reatores UASB, e ainda, reduzir custos e impactos ambientais.

Neste contexto, o presente trabalho objetivou contribuir para o aprimoramento da qualidade do efluente de reator UASB tratando esgoto doméstico no pós-tratamento em biorreatores utilizando a técnica de microaeração, aeração intermitente e ausência ou presença de luz solar. Para isso, o estudo abrangeu a remoção biológica de sulfeto dissolvido (e avaliação da principal rota de oxidação), a remoção de metano dissolvido e de nitrogênio amoniacal do efluente de reator UASB. A comunidade microbiana desenvolvida nos biorreatores foi avaliada a fim de obter informações das principais vias metabólicas de remoção dos componentes nas diferentes condições testadas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A importância do pós-tratamento para remoção de metano, sulfeto e nitrogênio amoniacal

Dentre os métodos anaeróbios para tratamento de esgotos, os reatores UASB têm ganhado destaque por apresentarem vantagens em relação à economia de energia, recuperação de biogás e baixa produção de lodo, contribuindo para a adoção destes em relação às práticas tradicionais de tratamento aeróbio de esgotos (STAZI & TOMEI, 2018)

A qualidade do efluente final dos reatores UASB não é, muitas vezes, suficiente para atender aos padrões restritivos de lançamentos de efluentes, além da possibilidade de causar danos ambientais, tornando fundamental a adoção de uma etapa de pós-tratamento. Este fator justifica a grande quantidade de sistemas acoplados no Brasil. Um levantamento com 2.187 estações de tratamento de esgotos (ETEs) no Brasil apontou que o reator UASB sozinho ou seguido por qualquer forma de pós-tratamento, lodo ativado e diferentes combinações de lagoas tratam o maior equivalente populacional, representando 95% da população total equivalente (VON SPERLING, 2016).

Dentre os componentes que torna importante o pós-tratamento destaca-se a presença de matéria orgânica residual, nutrientes, organismos patogênicos e sulfeto dissolvido. Estes constituintes estão presentes na resolução brasileira CONAMA n° 430/2011 (BRASIL, 2011) e Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH n° 01/2008 do estado de Minas Gerais como padrões de lançamento de efluentes. Embora a emissão de metano para a atmosfera, a exemplo das emissões fugitivas a partir do desprendimento do efluente tratado, seja um fator de preocupação ambiental, no Brasil ainda não existe uma legislação pertinente às emissões deste gás em ETEs.

Para os compostos estudados nesta pesquisa e presentes nas resoluções ambientais, o valor máximo estabelecido para o sulfeto é de 1 mgS.L^{-1} , e para o nitrogênio amoniacal o limite de lançamento é de 20 mgN.L^{-1} . Mesmo com os riscos associados à presença de compostos nitrogenados, quando presentes em altas concentrações no efluente, a lei federal supracitada manteve após alteração da lei anterior CONAMA nº357/2005 (BRASIL, 2005) apenas o limite máximo para nitrogênio amoniacal proveniente de efluentes industriais. Portanto, este limite não é aplicável a sistemas de tratamento de esgoto sanitário. Assim, os problemas associados a este composto no ambiente e as possibilidades de futuras restrições incentivam pesquisas voltadas para sua remoção.

Adicionalmente à necessidade de atendimento às legislações ambientais, o pós-tratamento do efluente anaeróbico visa minimizar impactos ao meio ambiente e à saúde humana. A emissão do metano na atmosfera tem consequências negativas, pois é um gás de efeito estufa desempenhando um importante papel no aquecimento global. Estima-se que sua concentração esteja em crescente ascensão, com aumento de aproximadamente 1% ao ano (AIMEN *et al.*, 2018). A contribuição do CH_4 para o aquecimento global pode ocorrer nas estações de tratamento de esgotos (ETE) porque nem sempre ele é utilizado para a geração de energia e em muitos casos não é queimado, sendo liberado diretamente para a atmosfera (CHERNICHARO *et al.*, 2015). Além dos impactos ambientais, a presença do metano com o efluente tratado culmina em perda de potencial energético.

O sulfeto, que é formado a partir da redução desassimilativa do sulfato presente no esgoto bruto, é emitido com o biogás produzido no reator UASB e/ou dissolvido no efluente tratado. A formação deste gás depende da natureza dos precursores, pH e potencial de óxido-redução do sistema (CHERNICHARO *et al.*, 2015). O sulfeto é extremamente tóxico, corrosivo e responsável pela emanção de maus odores (LIN *et al.*, 2018) em reatores UASB.

Os níveis dos gases dissolvidos (metano e sulfeto) no efluente dependerão da água residuária, bem como da eficácia do processo de tratamento (CHEN *et al.*, 2016). Nos últimos anos, a avaliação da presença de gases dissolvidos no efluente anaeróbico tem sido considerada na adoção de tecnologias adequadas para pós-tratamento (CHEN *et al.*, 2016; GARCIA *et al.*, 2017; MATSUURA *et al.*, 2015; SILVA-TEIRA *et al.*, 2017).

As águas residuárias são uma importante fonte de poluição por compostos nitrogenados em corpos d'água receptores. Portanto, a remoção eficiente destes é fundamental para evitar a

eutrofização e desoxigenação do ambiente (VAN KESSEL *et al.*, 2018). Provenientes do esgoto bruto, compostos nitrogenados não são removidos no tratamento anaeróbio de reatores UASB. Convencionalmente a remoção do nitrogênio amoniacal é realizada através da nitrificação e desnitrificação. A demanda por energia para aeração, em sistemas em que a introdução do oxigênio ocorre de forma mecanizada, e de fonte de carbono nestes processos convencionais tem feito com que sistemas alternativos, como os realizados em unidade única, ganhem espaço nas pesquisas cujo objetivo seja a remoção de compostos nitrogenados. Assim, sistemas com aeração mínima e que não dependem de fonte externa de carbono têm sido desenvolvidos (SILVA *et al.*, 2018). Vale ressaltar que independente do tipo de aeração adotado, o fornecimento de oxigênio deve atender as demandas estequiométricas, de modo a alcançar a remoção dos compostos presentes na água residuária.

As características de cada um dos compostos estudados, as transformações biológicas e remoção estão descritas nos tópicos seguintes.

2.2 O metano nos sistemas anaeróbios de tratamento de esgotos

Os processos de tratamento anaeróbio têm sido aplicados não apenas pelas vantagens relacionadas ao custo e simplicidade operacional, mas também pela geração e coleta do biogás, o qual é passível de aproveitamento energético devido à sua composição rica em metano (CH₄) (CHERNICHARO *et al.*, 2018a).

O biogás é produto da conversão anaeróbia da matéria orgânica por diversos grupos de microorganismos. A composição global do biogás produzido durante a digestão anaeróbia varia de acordo com condições ambientais presentes no reator como concentração da matéria orgânica a ser digerida, parâmetros físico-químicos (pH e temperatura) e da presença de ânions como sulfatos e nitratos (NOYOLA *et al.*, 2006). No caso do tratamento anaeróbio em reatores UASB para esgoto sanitário, o biogás pode conter uma concentração de CH₄ variando de 70 a 81% (BRASIL, 2016a).

O metano é um composto inflamável, inodoro, incolor, com densidade menor que aquela atribuída ao ar e alto poder calorífico. Em condições normais de temperatura e pressão, a massa específica do metano é 0,717 kg/m³ e seu poder calorífico inferior é 35,9 MJ/Nm³. Dessa maneira, o teor de metano define a quantidade de energia que pode ser extraída do biogás. O biogás pode ser utilizado para secar termicamente lodos e escumas, bem como para gerar energia elétrica. Adicionalmente, pode ser empregado como combustível veicular, industrial e

residencial (BRASIL, 2016b). No Brasil, entretanto, a maior parte das ETEs, quando recupera o biogás, simplesmente o queima antes de lançá-lo para a atmosfera, desperdiçando o seu potencial energético e seus eventuais benefícios econômicos, sociais e ambientais (BRASIL, 2015).

A produção do biogás ocorre quando constituintes gasosos na fase líquida excedem concentrações de saturação. Para uma dada pressão parcial de um constituinte na fase gasosa, sua concentração de saturação na fase líquida pode ser calculada pela Lei de Henry. Esta lei estabelece que a fração molar de um determinado constituinte em um líquido, a uma dada temperatura, é diretamente proporcional à pressão parcial deste na fase gasosa que o envolve. De acordo com a Lei de Henry, os valores da constante para o metano indicam ser este um gás com baixa solubilidade em água (SOUZA *et al.*, 2011). Entretanto, o CH₄ recuperado na fase gasosa está abaixo do valor estequiométrico de 0,35 Nm³.kg⁻¹ DQO removida, apontando que uma importante fração fica dissolvida no efluente (CHERNICHARO *et al.*, 2015). Dessa forma, a concentração de metano na fase líquida é comumente subestimada pela concentração de saturação calculada com a Lei de Henry. Souza *et al.* (2011) observaram que a concentração de CH₄ na fase líquida foi de 1,37 a 1,67 maior que a concentração de saturação esperada por esta lei para reatores UASB tratando esgoto doméstico.

Quando dissolvido na fase líquida o CH₄ pode escapar para a atmosfera através das estruturas a jusante dos reatores, vazamentos de biogás, provenientes de falhas na estanqueidade dos reatores e linhas de gás, e como gás residual (BRASIL, 2016a). Estas perdas configuram em perda de potencial energético, assim como emissão de gás de efeito estufa (GEE). Isto porque o metano é um GEE com potencial de aquecimento global cerca de 28 vezes a do CO₂ em uma escala de tempo de 100 anos. O CH₄ proveniente do tratamento anaeróbico de águas residuárias é responsável por 2,8% das emissões globais de gases de efeito estufa. Portanto, emissões fugitivas de CH₄ para a atmosfera são sempre indesejadas (IPCC, 2013).

Souza *et al.* (2012) observaram perda de 53 a 66% de CH₄ dissolvido no efluente de reatores UASB em relação ao que foi coletado no interior dos separadores trifásicos. Matsuura *et al.* (2015) avaliaram a relação entre temperatura e quantidade de CH₄ dissolvido no efluente de UASB e no pós-tratamento do efluente em reator de fluxo descendente e esponja em suspensão (DHS) de dois estágios. Os autores verificaram que na estação mais quente (23,5 - 28°C) 46% do CH₄ produzido permaneceu dissolvido e no inverno (10,5 - 13,7°C) esta porção representou

68%. Valores muito maiores, aproximadamente 80% do CH₄ total produzido, pode ser perdido com o efluente segundo cálculos de supersaturação realizados por Hartley & Lant (2006). Souza *et al.* (2011) quantificaram a produção de CH₄ em reatores UASB em escala piloto (340 L) e demonstração (14 m³), tratando esgoto doméstico e em diferentes condições operacionais. Os resultados globais indicaram que as perdas deste gás dissolvido no efluente anaeróbio foram consideravelmente elevadas, variando de 36 a 41% do total gerado no reator.

A fim de minimizar a perda de potencial energético e a emissão de gás de efeito estufa, tecnologias para remoção e/ou recuperação do CH₄ dissolvido do efluente anaeróbio se fazem necessárias. Diversos métodos não biológicos para remoção de metano dissolvido já foram estudados e podem ser consultados na literatura. Glória *et al.* (2016) observaram uma eficiência de recuperação de 73% do metano em câmara de dissipação, tratando efluente de reator UASB. O uso de membranas para desgaseificação já foi adotado com eficiência variando de 72% a 97% (BANDARA *et al.*, 2012; COOKNEY *et al.*, 2012; LUO *et al.*, 2012). Huete *et al.* (2018) avaliaram a remoção de CH₄ dissolvido em sistema piloto constituído por uma coluna de dessorção com eficiência de remoção de 99%.

Utilizar micro-organismos capazes de oxidar o metano presente nos efluentes anaeróbios é aparentemente umas das estratégias mais viáveis atualmente (MATSUURA *et al.*, 2017, 2015; SILVA-TEIRA *et al.*, 2017). Os micro-organismos envolvidos nas rotas de remoção do metano estão descritos no tópico 2.5.1. Adicionalmente, reações de oxidação e redução envolvendo o metano e outros contaminantes presentes no efluente tratado (e estudados nesta pesquisa) estão descritas no tópico 2.5.4.

2.3 O enxofre nos sistemas anaeróbios de tratamento de esgotos

A conversão anaeróbia dos compostos de enxofre é ainda um dos obstáculos na operação dos reatores UASB. Quando sulfato (SO₄²⁻) e outros compostos oxidados a base de enxofre estão presentes no esgoto, são usados como aceptores de elétrons, durante a oxidação de compostos orgânicos, produzindo sulfetos (CHERNICHARO, 2016). A reação de redução do SO₄²⁻ é termodinamicamente mais favorável que muitas reações envolvendo outras bactérias anaeróbias. Portanto, a produção do metano a partir do substrato orgânico é reduzida na presença de sulfato e bactérias redutoras de sulfato (BRS).

O SO_4^{2-} no esgoto pode ter origem de três fontes potenciais: sulfato presente na água destinada para produção de água potável, adicionado como coagulantes nos processos de tratamento de água e lançamento de resíduos humanos e/ou industriais (PIKAAR *et al.*, 2014).

O H_2S do esgoto é liberado principalmente no biogás, podendo ser também emitido com o efluente tratado. Altas concentrações de sulfeto de hidrogênio reduzem a qualidade do biogás, causam corrosão do concreto e aço, produzem emissões com odor desagradável e são tóxicas para o ser humano. Além disso, a presença de sulfeto na fase líquida causa a corrosão dos sistemas de transporte de água e o acúmulo de material inerte no lodo (KRAYZELOVA *et al.*, 2015).

O sulfeto de hidrogênio formado pela redução do SO_4^{2-} se encontra na forma dissociada (HS^-) ou não (H_2S) dependendo do pH do meio. A forma não dissociada é a responsável pelos processos de inibição aos micro-organismos, uma vez que difunde através da membrana dos mesmos. O H_2S é mais tóxico para os micro-organismos acidogênicos, em seguida para os acetogênicos e por último para os metanogênicos (POKORNA & ZABRANSKA, 2015; GUERRERO *et al.*, 2015). Este efeito inibitório resultará em diminuição na produção de metano e, conseqüentemente, reduzirá a produção de energia potencial no sistema (SOUSA *et al.*, 2016). Concentrações medianas de H_2S no biogás do tratamento anaeróbio tratando esgoto sanitário podem variar de 1.000 a 5.000 ppm (BRASIL, 2015); em reatores UASB tratando esgoto doméstico concentrações medianas variando entre 1.200 a 2.000 ppm foram observadas por Souza *et al.* (2012).

A desulfuração do biogás pode ser realizada por métodos físico-químicos e biológicos (CANO *et al.*, 2018), de modo a aprimorar a qualidade do gás gerado e minimizar efeitos indesejados como mau odor. Cano *et al.* (2018) investigaram diferentes tecnologias, biológicas (filtro biológico percolador aeróbio e anóxico) e físico-químicas (tratamento químico com peróxido de hidrogênio e adsorção em carvão ativado), para remoção de sulfeto de hidrogênio do biogás gerado em estações de tratamento de esgotos. Os resultados indicaram que as tecnologias biológicas são mais favoráveis, no que se refere ao impacto ambiental, do que as tecnologias físico-químicas, ou na ausência de tratamento.

Quando dissolvido no efluente anaeróbio, o sulfeto de hidrogênio pode escapar para a atmosfera causando problemas como mau odor (CHERNICHARO *et al.*, 2015). A dissociação das espécies de sulfeto está relacionada à temperatura e pH do meio (CHERNICHARO, 2016). Para

temperatura igual a 25°C e pH inferior a 7 o principal componente dissolvido é a forma não dissociada (H_2S), para valores de pH acima de 7 predomina a forma dissociada (HS^-) e a concentração de sulfeto livre (S^{2-}) é desprezível nas faixas de pH associada ao tratamento de esgotos. Concentrações já reportadas de sulfeto de hidrogênio em efluente de reator UASB tratando esgoto doméstico variaram de 7 a 11 mgS.L^{-1} (SOUZA *et al.*, 2012) e de 5 a 11 mgS.L^{-1} (AZEVEDO *et al.*, 2018).

Quando presente na fase líquida o sulfeto de hidrogênio pode ser removido por métodos físico-químicos e biológicos. Tecnologias físico-químicas, em sua maioria, requerem altas dosagens de produtos químicos e consumo de energia, resultando em elevação dos custos operacionais. Em contraste, métodos biológicos apresentam vantagens atraentes para sua aplicação como baixa produção de lodo, dispensa adição de catalisadores e potencial recuperação de enxofre elementar (S^0). Adicionalmente, podem ser realizados em temperatura e pressão ambiente, e produzem menores volumes de subprodutos contaminados, resultando em operações mais seguras e de fácil disposição / gestão de resíduos (LIN *et al.*, 2018).

O S^0 produzido a partir da remoção biológica do sulfeto pode ser usado como matéria-prima para produção de ácido sulfúrico e fertilizantes (CHUNG *et al.*, 2013). Além disso, o interesse em usar enxofre elementar como matéria-prima para outras aplicações, além daquelas, está aumentando nos últimos anos (LIN *et al.*, 2018).

As transformações biológicas do ciclo enxofre estão descritas no tópico 2.5.2 e as interações com os demais elementos estudados em 2.5.4.

2.4 O nitrogênio em sistemas anaeróbios de tratamento de esgoto

O nitrogênio pode causar inúmeros problemas ambientais, incluindo eutrofização, deterioração da qualidade das águas e riscos à saúde humana por várias de suas formas (amônia, nitrito e nitrato). Deste modo, a remoção de compostos nitrogenados se torna crucial no tratamento de esgoto (MARAZIOTI *et al.*, 2003).

Os compostos nitrogenados, com seus inúmeros estados de oxidação e formas, podem se alternar no ambiente como resultado de diversos processos bioquímicos (VON SPERLING, 2014). No esgoto doméstico bruto as formas nitrogenadas predominantes são o nitrogênio orgânico e amônia, que podem ser determinados pelo método de Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK). A amônia em solução pode ser encontrada tanto na forma de ion amônio (NH_4^+), como

na forma livre não ionizada (NH_3). Em pH abaixo de 8 praticamente toda amônia se encontra na forma de NH_4^+ , pH igual a 9,5 aproximadamente 50% encontram-se na forma de NH_3 e 50% NH_4^+ e pH acima de 11 praticamente toda amônia na forma de NH_3 (VON SPERLING, 2014).

No esgoto sanitário concentrações típicas de nitrogênio orgânico são entre 15 a 25 mgN.L^{-1} , amônia entre 20 e 35 $\text{mgNH}_3.\text{L}^{-1}$, enquanto concentrações de NO_2^- e NO_3^- são praticamente nulas (BRASIL, 2015). A amônia presente nas ETEs ou cursos d'água podem sofrer transformações e ser oxidada a nitrito (NO_2^-) e este a nitrato (NO_3^-), processo denominado nitrificação. O NO_3^- por sua vez pode ser reduzido a nitrogênio gasoso (N_2), através da desnitrificação.

Em sistemas anaeróbios para tratamento de esgotos as concentrações de nutrientes (nitrogênio e fósforo) no efluente podem ser um pouco maiores que as afluentes (CHERNICHARO *et al.*, 2015). Sendo assim, efluentes anaeróbios podem constituir importantes fontes de emissão de compostos nitrogenados, ressaltando a importância do pós-tratamento para proteger os corpos d'água receptores. Processos biológicos contendo diversos grupos microbianos podem representar importante estratégia para alcançar a qualidade necessária do efluente no que se refere a estes compostos. Os micro-organismos envolvidos no ciclo do nitrogênio estão descritos no tópico 2.5.3.

2.5 Transformações biológicas dos elementos estudados

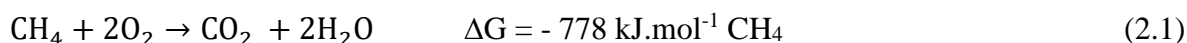
2.5.1 Ciclo biológico do carbono

Diversos metabolismos microbianos podem estar presentes na oxidação do metano promovendo a remoção deste de efluentes anaeróbios. As rotas, tanto de oxidação quanto de produção do metano, estão inseridas no ciclo do carbono. A oxidação do metano pode ocorrer em condições aeróbias ou anóxicas, com diferentes grupos microbianos envolvidos em cada processo. A maioria dos micro-organismos metanotróficos têm crescimento ótimo em pH moderado (de 5 a 8) e temperatura entre 20 e 35°C, mas crescimento psicrófilico (<15°C), termofílico (>40°C), em ambiente alcalino (pH>9) e ácido (pH<5) têm sido reportados (SEMRAU *et al.*, 2010).

Sabe-se que os metanotróficos estão bastante distribuídos em amostras ambientais, sendo encontrados em pântanos, sedimentos de água doce e marinha, lodos de esgoto, água

subterrânea, dentre outros (SEMRAU *et al.*, 2010; SEMRAU *et al.*, 2011; HANSON & HANSON, 1996).

Bactérias metanotróficas, também conhecidas como bactérias oxidadoras de metano, fazem parte de um grupo importante de bactérias responsáveis principalmente pela execução do ciclo global natural do carbono (AIMEN *et al.*, 2018). A oxidação aeróbia do metano, realizada por bactérias metanotróficas, é um processo de quatro etapas que culmina com a formação de dióxido de carbônico (Figura 2.1). A reação global de oxidação aeróbia do metano está representada na Equação 2.1 (HANSON e HANSON, 1996):



Bactérias metanotróficas se distinguem de outros micro-organismos pela habilidade de usar o metano como única fonte de carbono e energia (SEMRAU *et al.*, 2010). A maioria é metanotrófica obrigatória, capaz de crescer na presença apenas de compostos de um carbono, essencialmente metano e metanol (VEILLETTE *et al.*, 2012). No entanto, há algumas exceções, a exemplo das bactérias facultativas com capacidade de utilizar compostos com ligação carbono-carbono tais como acetato, piruvato e etanol, como os representantes dos gêneros *Methylocella*, *Methylocapsa* e *Methylocystis* (SEMRAU *et al.*, 2011).

A oxidação do metano inicia com a ação de enzimas conhecidas como metano monooxigenases (MMOs), que catalizam a oxidação do metano a metanol (CH_3OH) (Figura 2.1) incorporando um átomo de oxigênio oriundo da molécula de O_2 (SEMRAU *et al.*, 2010). Duas formas de MMOs são encontradas nas metanotróficas, a forma particulada ou associada à membrana (pMMO) e a forma solúvel (sMMO). A forma particulada está presente na maioria dos metanotróficos (com exceção de membros do gênero *Methylocella*), está localizada na membrana citoplasmática e possui mais afinidade ao CH_4 quando comparada com células que expressam sMMO. A forma sMMO está presente em alguns grupos e fica localizada no citoplasma (HANSON & HANSON, 1996; SEMRAU *et al.*, 2010).

Nas bactérias metanotróficas que apresentam ambas as MMOs, o cobre (Cu) é um fator chave no controle da atividade destas, porque regula a expressão dos genes que codificam estas enzimas. A pMMO é dependente do Cu, ou seja, a primeira etapa da oxidação é dependente deste elemento; por outro lado o Cu determina o tipo de MMO produzida quando ele está em

baixas concentrações (AIMEN *et al.*, 2018; SEMRAU *et al.*, 2010). Deste modo, bactérias metanotróficas respondem diferentemente à concentração do cobre presente no meio.

O metanol produzido na primeira reação de oxidação do metano é então oxidado a formaldeído (CH_2O), pela enzima metanol desidrogenase (MDH), que é usado para biossíntese de material celular na via anabólica (Figura 2.1). Posteriormente, o formaldeído pode ser oxidado a formiato (HCOO^-), pela ação da enzima formaldeído desidrogenase (FADH), e a enzima formiato desidrogenase (FDH) é então responsável pela oxidação do formiato a dióxido de carbono (CO_2). As rotas de oxidação do formaldeído a CO_2 representam a via catabólica de oxidação do metano.

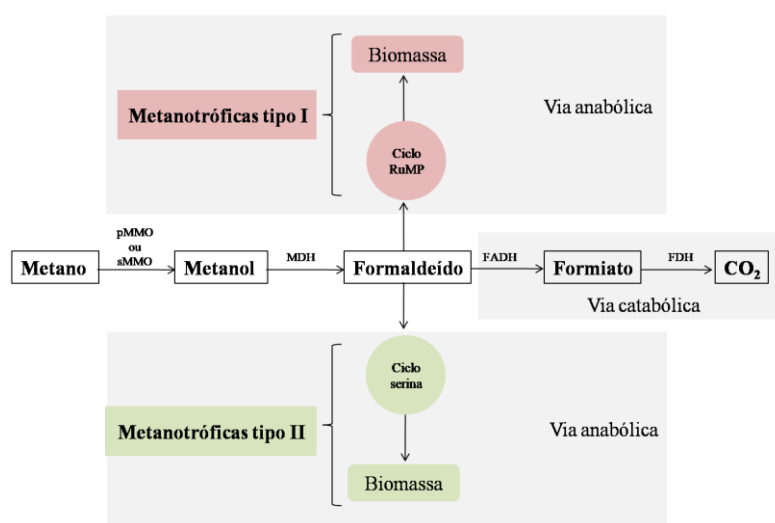


Figura 2.1 – Fluxograma do metabolismo de utilização do metano pelas metanotróficas

Nota: pMMO = metano monooxigenases particulada; sMMO = metano monooxigenases solúvel; MDH = metanol desidrogenase; FADH = formaldeído desidrogenase; FDH = formiato desidrogenase

Fonte: A autora

O formaldeído pode ser assimilado pelas bactérias metanotróficas por duas vias - ribulose monofosfato (RuMP) e via serina (Figura 2.1). A rota bioquímica de biossíntese celular, a partir do formaldeído, divide as bactérias em metanotróficas tipo I, tipo II e tipo X.

Metanotróficas do tipo I (classe *Gammaproteobacteria*) assimilam formaldeído pela via ribulose monofosfato (RuMP). Estão alocadas nesse grupo bactérias dos gêneros *Methylococcus*, *Methylobacter*, *Methylomonas* e *Methylocaldum* (HANSON e HANSON, 1996). Metanotróficas tipo II (classe *Alphaproteobacteria*) assimilam formaldeído via serina e compreende os gêneros *Methylocystis* e *Methylosinus*. Bactérias *Methylococcus capsulatus* (classe *Gammaproteobacteria*) compreendem o tipo X e são caracterizadas pelo uso da via

RuMP para assimilar formaldeído e expressão de enzimas responsáveis pela via anabólica das bactérias do grupo II (HANSON e HANSON, 1996), são consideradas um subgrupo das metanotróficas tipo I.

Diversas características distinguem os principais grupos de metanotróficas aeróbias, incluindo composição dos ácidos graxos, formação intracitoplasmática e mecanismo de assimilação de carbono à biomassa (SEMRAU *et al.*, 2010; 2011). As principais características dos tipos de metanotróficas estão resumidas na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 – Principais características dos três tipos de bactérias metanotróficas (tipo I, II e X)

	Tipo I	Tipo II	Tipo X
Classe	<i>Gamma</i> proteobacteria	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Gamma</i> proteobacteria
Morfologia celular	Coco ou elipsoide	Bacilo ou vibrioide	Cocos (sempre em pares)
Via de assimilação do carbono	RuMP	Serina	RuMP e serina (algumas ocasiões)
Conteúdo G+C no DNA (%mol)	49-60	62-67	59-65
Fixação de nitrogênio	Não	Sim	Sim
Crescimento termofílico (>40°C)	Não	Não	Sim
Membranas internas	Feixes de vesículas discóides distribuídos por toda célula	Emparelhadas ao longo da periferia celular	Feixes de vesículas discóides distribuídos por toda célula
Nº carbono dos ácidos graxos da membrana	14 e 16	18	16

Fonte: Hanson & Hanson (1996) / Madigan *et al.* (2010) / Semrau *et al.* (2010)

Com relação à presença do metano e do cobre, elemento que desempenha importante papel na fisiologia e atividade dessas bactérias, metanotróficas do tipo I dominam em ambientes onde o metano está presente em quantidade limitada e com relativamente altos níveis de nitrogênio e cobre. Em contrapartida, metanotróficas do tipo II são favorecidas em ambientes com alta concentração de metano, baixos níveis de oxigênio e concentrações limitadas de nitrogênio e/ou cobre (AIMEN *et al.*, 2018).

Os três grupos de metanotróficas (tipos I, II e X) fazem parte do domínio *Proteobacteria*, filo que engloba a maioria das bactérias metanotróficas. Neste filo constam 18 gêneros de metanotróficas aeróbias cultivadas na classe *Gammaproteobacteria* e 5 em *Alphaproteobacteria*, totalizando aproximadamente 60 espécies. Em *Gammaproteobacteria* se consideram os grupos não cultivados (*Crenothrix* e *Clonothrix*) totalizam 20 gêneros (KNIEF, 2016). Além do filo *Proteobacteria* alguns gêneros são descritos no filo *Verrucomicrobia*. Relativamente pouco se sabe sobre este filo, mas as informações existentes indicam que estas metanotróficas desempenham um papel significativo no ciclo global do carbono, embora com magnitude ainda desconhecida (SEMRAU *et al.*, 2010). Adicionalmente, os gêneros referentes (*Methylacidiphilum* e *Methylacidimicrobium*) representam distintas linhagens dentro deste filo, e se referem à metanotróficas termoacidófilas.

A classificação destes grupos com base na morfologia, estrutura da membrana e algumas outras características morfológicas está apresentada na Figura 2.2 abaixo.

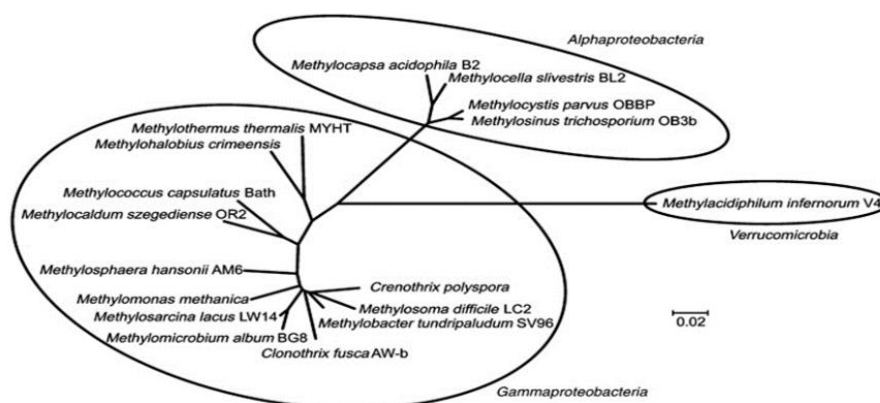


Figura 2.2 – Relações filogenéticas de metanotróficas criadas com base na sequência do gene 16sRNA

Fonte: Aimen *et al.* (2018)

A classificação das metanotróficas aeróbias em tipos I e X como *Gammaproteobacteria* e tipo II *Alphaproteobacteria* tem se alterado nos últimos anos, devido à caracterização de vários novos gêneros e espécies. Embora a principal via de fixação de carbono ainda seja uma característica distintiva, várias outras características não são mais encontradas exclusivamente em um ou outro grupo (KNIEF, 2015). As peculiaridades da classificação das metanotróficas aeróbias estão apresentadas na Tabela 2.2. Nesta nova classificação o filo *Proteobacteria* é dividido em cinco famílias.

Tabela 2.2 – Resumo da classificação geral e características principais de metanotróficas aeróbias

Filo	Classe	Ordem	Família	Gênero	Tipo ^a		
Proteobacteria	Alpha*	Rhizobiales	Methylocystaceae	<i>Methylocystis</i> , <i>Methylosinus</i>	IIa		
			Beijerinckiacae	<i>Methylocapsa</i> ¹ <i>Methylocella</i> ¹ <i>Methyloferula</i>	IIb		
				Gamma*	Methylococcales	Methylococcaceae	<i>Methylobacter</i> , <i>Methylomicrobium</i> , <i>Methylomonas</i> , <i>Methylosoma</i> , <i>Methylosphaera</i> , <i>Methylosarcina</i> , <i>Methyloglobulus</i> , <i>Methylomarinum</i> , <i>Methyloprofundus</i> , <i>Methyloparacoccus</i> , <i>Methylomagnum</i> , <i>Methylovulum</i> , “ <i>Candidatus</i> <i>Clonothrixfusca</i> ” ^b
			Methylogaea, <i>Methylocaldum</i> , <i>Methylococcus</i>			Ib	
	Methylothermaceae	<i>Methylohalobius</i> , <i>Methylothermus</i> , <i>Methylomarinovum</i>	Ic				
	Crenotrichaceae ^b	“ <i>Candidatus</i> <i>Crenothrix</i> <i>polyspora</i> ” ^c	-				
	Verrucomicrobia		Methylacidiphilaceae			<i>Methyloacidiphilum</i> , <i>Methylacidimicrobium</i>	III

^aclassificação conforme apresentado e adotado no estudo de revisão de Knief (2015); ^bnão isoladas e cultivadas (SEMRAU *et al.*, 2010) e, portanto, não são classificadas em nenhum dos tipos de metanotróficas aeróbias; ^c*Crenothrix* pode ser considerado membro de *Methylococcaceae* e baseado no gene 16S rRNA (KNIEF, 2015). * *Alphaproteobacteria*, * *Gammaproteobacteria*.

Estudo de revisão desenvolvido por Knief (2015) expõe as características distintivas dos grupos que alteram a classificação dos três grupos (I, II e X) anteriormente conhecida. Em resumo, as espécies do grupo *Beijerinckia* (*Alphaproteobacteria*) não são consideradas tipo II, pois a maioria não apresenta sistema de membrana interna e apresentam diferenciação no padrão de ácidos graxos; *Methylocella* e *Methyloferula* não possuem pMMO. A maioria dos membros de *Methylothermaceae* possui ácidos graxos similares aos do tipo II. *Verrucomicrobia* se

diferencia da maioria por não apresentar sistema de membranas intracitoplasmáticas típico e ácidos graxos distintos. Critérios de diferenciação adicionais, como capacidade de fixação de nitrogênio, formação de estágios de repouso ou temperatura ideal de crescimento, que foram inicialmente aplicados, não são mais indicativos para um ou outro tipo (KNIEF, 2015).

As divisões das classes estão apresentadas na Tabela 2.2. Embora uma nova classificação tenha sido proposta para as metanotróficas aeróbias, na literatura os três tipos (I, II e X) são comumente reportados. Adicionalmente, há ainda algumas divergências em relação às diferenciações dos novos grupos propostos.

2.5.2 Ciclo biológico do enxofre

O sulfeto pode ser produzido por micro-organismos anaeróbios como resultado da quebra de proteínas em aminoácidos e posterior degradação de aminoácidos em sulfeto, ou redução direta de sulfato (SO_4^{2-}) a sulfeto (S^{2-}) por bactérias redutoras de sulfato (BRS). BRS engloba um grupo diverso de anaeróbios obrigatórios que prosperam em ambientes anóxicos contendo materiais orgânicos e sulfato. Estas bactérias utilizam compostos orgânicos ou hidrogênio como doador de elétrons na redução de SO_4^{2-} a S^{2-} de acordo com a Equação 2.2 (TANG *et al.*, 2009)

O grupo de BRS é diverso e está dividido em sete linhagens filogenéticas, cinco em bactéria e duas em arqueias (MEULEPAS *et al.*, 2010). Algumas espécies dos gêneros *Desulfobacter*, *Desulfococcus*, *Desulfonema*, *Desulfovibrio*, dentre outros, são capazes de realizar este processo (TANG *et al.*, 2009) (Figura 2.3).



O sulfeto pode ser produzido também a partir da redução do enxofre por outro grupo de anaeróbios obrigatórios, como os gêneros *Desulfuromonas*, *Desulfurella*, *Sulfurospirillum* e *Campylobacter*. Estas bactérias podem reduzir enxofre a sulfeto, mas são incapazes de reduzir sulfato a sulfeto (TANG *et al.*, 2009).

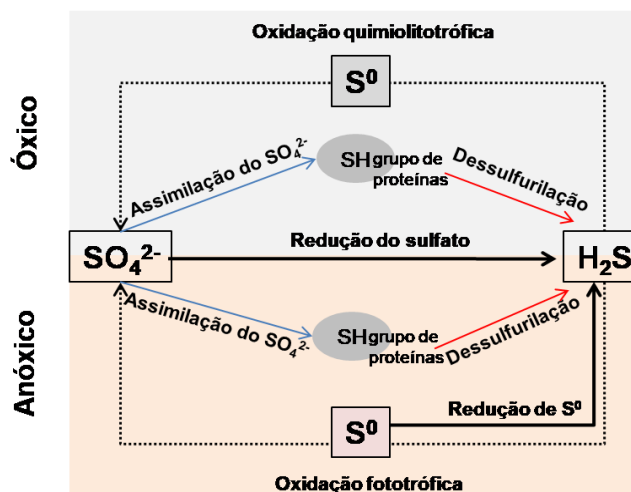


Figura 2.3 – Ciclo biológico do enxofre

Nota: Redução do sulfato (anaeróbia) = bactérias redutoras de sulfato (*Desulfovibrio*, *Desulfobacter*); Redução do enxofre (anaeróbia): *Desulfuromonas*, *Desulfurella* e *Campylobacter*; Oxidação fototrófica (anaeróbia) = bactérias sulfurosas púrpuras (*Chromatium*, *Thiocapsa*, *Thiocystus*) e bactérias sulfurosas verdes (*Chlorobium* e *Chlorobaculum*); Oxidação quimiolitotrófica (aeróbia) = bactérias sulfurosas incolores (*Thiobacillus*, *Beggiatoa*, etc).

Fonte: Adaptado de Madigan *et al.* (2010)

O enxofre, na forma de sulfeto de hidrogênio, é oxidado por diversos micro-organismos a enxofre elementar (S^0) e SO_4^{2-} (MADIGAN *et al.*, 2010). Bactérias oxidadoras de enxofre (BOE) usam formas reduzidas de enxofre como doadores de elétrons e são divididas de acordo com a fonte de energia e condições de crescimento – bactérias fototróficas (fotoorganotróficas ou fotolitotróficas) e bactérias quimiotróficas (quimiorganotróficas e quimiolitotróficas) (POKORNA & ZABRANSKA, 2015; LIN *et al.*, 2018).

As bactérias fotossintéticas podem ser divididas em quatro famílias (LU *et al.*, 2019), a saber: *Rhodospirillaceae* (bactérias púrpuras não sulfurosas, do inglês, *purple non-sulfur bacteria*, PNSB), *Chromatiaceae* (bactérias púrpuras sulfurosas, do inglês, *purple sulfur bacteria*, PB), *Chlorobiaceae* (bactérias verdes sulfurosas, do inglês, *green sulfur bacteria*, GSB) e *Chloroflexaceae* (bactérias verdes sulfurosas filamentosas com mobilidade deslizante, do inglês, *gliding filamentous green sulfur bacteria*, GFB). As características e o metabolismo dessas famílias estão descritos na Tabela 2.3.

Tabela 2.3 – Características e metabolismo de bactérias fototróficas

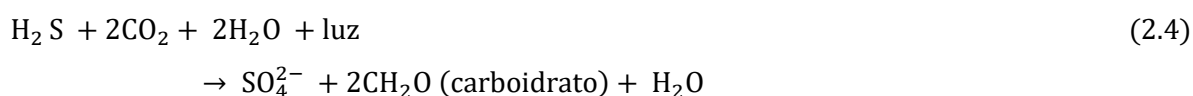
Família	<i>Rhodospirillaceae</i>	<i>Chromatiaceae</i>	<i>Chlorobiaceae</i>	<i>Chloroflexaceae</i>
Grupo	Bactéria púrpura-não sulfurosa	Bactéria púrpura-sulfurosa	Bactéria verde sulfurosa	Bactérias verdes sulfurosas filamentosas com mobilidade deslizante
Hábitat (s) típico(s)	Água e ambientes ricos em poluentes orgânicos, solo	Fluxo de água, água anaeróbia contendo CO ₂ e H ₂ S	Água anaeróbia contendo luz e sulfeto	Condição microaeróbia
pH	6 – 9	-	6,5 – 7	Neutro ou alcalino
Temperatura	-	20 – 30°C	20 – 30°C	45 – 70°C
Bacterioclorinas	a,b	a,b	Pouco a e c, d	a,c
Metabolismo	Fotoautotrófico, mixotrófico, fotoheterotrófico, heterótrofo	Fotoautotrófico	Fotoautotrófico	Fotoautotrófico, mixotrófico, fotoheterotrófico
Demanda luz-oxigênio	Luz-anaeróbio, luz-microaeróbio, luz-aeróbio, escuro-aeróbio, escuro-anaeróbio	Luz-anaeróbio, escuro-anaeróbio	Luz-anaeróbio	Luz-anaeróbio, luz-microaeróbio, luz-aeróbio, escuro-aeróbio, escuro-anaeróbio
Fonte de carbono	Todos os tipos de carbono orgânico de ácidos graxos pequenos	CO ₂ ou ácido acético	Pequenas substâncias orgânicas associadas com CO ₂ ou H ₂ S	Todos os tipos de pequenas moléculas orgânicas
Doador de hidrogênio	Todos os tipos de carbono orgânico	H ₂ S e outros sulfetos inorgânicos	H ₂ S, H ₂ e outros sulfetos inorgânicos	Todos os tipos de carbono orgânicos pequeno
Sensibilidade	Sensível a H ₂ S	Sensível ao O ₂	Sensível ao O ₂	Utiliza S

Fonte: Traduzido e adaptado de Lu *et al.* (2019)

A oxidação fototrófica do sulfeto em anaerobiose (fotossíntese anoxigênica) é realizada por bactérias púrpuras e verdes (sulfurosas e não sulfurosas). Em bactérias púrpuras sulfurosas, o sulfeto de hidrogênio é usado como doador de elétrons para redução de CO₂. A quantidade de luz e sulfeto determina o produto da reação (S⁰ ou SO₄²⁻) (POKORNA & ZABRANSKA, 2015) (Figura 2.3; Equações 2.3 e 2.4). Quando a intensidade de luz é limitada, a quantidade de CO₂ é suficiente e há excesso de sulfeto, o S⁰ será formado; com luz suficiente, o sulfeto pode ser

completamente oxidado a SO_4^{2-} (LIN *et al.*, 2018). Nestas bactérias, o sulfeto é oxidado a S^0 , que fica armazenado no interior das células (na maioria dos gêneros); posteriormente, o enxofre desaparece à medida que é oxidado a SO_4^{2-} . Alguns gêneros de bactérias púrpuras sulfurosas são *Chromatium*, *Thiocapsa*, *Thiocystis*, dentre outros (MADIGAN *et al.*, 2010).

Bactérias púrpuras também são capazes de utilizar compostos orgânicos, sendo, portanto, consideradas fotolitotróficas facultativas (POKORNA & ZABRANSKA, 2015), e algumas bactérias púrpuras como *Thiocapsa roseopersicina* podem crescer quimiolitotroficamente na ausência de luz (LIN *et al.*, 2018). A fotossíntese anoxigênica é realizada ainda por bactérias verdes sulfurosas, grupo que contém apenas espécies anaeróbias obrigatórias e fototróficas representado pelos gêneros *Chlorobium* e *Chlorobaculum*. Contrariamente às púrpuras sulfurosas, o enxofre produzido pelas verdes sulfurosas é depositado externamente à célula (MADIGAN *et al.*, 2010). Em comparação às outras bactérias fotossintéticas, as bactérias verdes necessitam de menor intensidade de luz (TANG *et al.*, 2009) e embora possam realizar a fotossíntese em condições anaeróbias, não crescem na ausência de luz (POKORNA & ZABRANSKA, 2015).



Algumas bactérias, denominadas não sulfurosas, também podem utilizar o sulfeto como doador de elétrons para reduzir CO_2 a compostos celulares. Bactérias púrpuras não-sulfurosas representam um grupo de bactérias amplamente distribuídas no ambiente e águas residuárias, que podem participar da conversão da energia luminosa em energia química através da fotossíntese anoxigênica (CHITAPORN PAN *et al.*, 2013). Estes organismos são capazes de crescer em condições fotoautotrófica, fotoheterotrófica e quimiotrófica, com preferência pelo metabolismo fotoheterotrófico (IMHOFF *et al.*, 2005). Além disso, na ausência de luz podem crescer em condições heterotróficas. A maioria dos gêneros se encontra nas subclasses *Alphaproteobacteria* e *Betaproteobacteria* a exemplo dos gêneros *Rhodospseudomonas* sp., *Rhodobacter* e *Rhodospirillum*. Bactérias verdes não sulfurosas (ou filamentosas) pertencem ao filo *Chloroflexi*.

Bactérias oxidadoras de enxofre quimiolitotróficas são classificadas em quatro grupos de acordo com a fonte de carbono e energia (TANG *et al.*, 2009), são eles: quimiolitotróficas

obrigatórias que usam CO₂ como fonte de carbono e diferentes compostos de enxofre para obter energia (*Thiobacillus* e *Thiomicrospira*), quimiolitotróficas facultativas que podem usar CO₂ e compostos inorgânicos como fonte de energia ou compostos orgânicos ou mixotroficamente (*Thiobacilli*, *Thiosphaera pantotropha*, *Paracoccus denitrificans* e algumas espécies de *Beggiatoa*), quimiolitoheterotróficas que usam compostos reduzidos de enxofre para obter energia, mas são incapazes de usar CO₂ (várias espécies de *Beggiatoa* e *Thiobacillus*) e quimiorganoheterotróficas que oxidam compostos reduzidos de enxofre sem usar energia decorrente deles (*Thiobacterium*, *Thiothrix* e algumas espécies de *Beggiatoa*).

Bactérias incolores, assim denominadas devido à ausência de pigmentos, compreendem as oxidadoras de sulfeto quimiolitotróficas. Estas bactérias oxidam quase todos os compostos reduzidos de enxofre como sulfeto de hidrogênio (H₂S), enxofre elementar (S⁰), tiosulfato (S₂O₃²⁻) (Equações 2.5 a 2.8), dentre outros (GUERRERO *et al.*, 2015; POKORNA & ZABRANSKA, 2015); o principal produto da oxidação é o sulfato.

Algumas espécies oxidantes de H₂S depositam o S⁰ no interior das células, sendo utilizado como reserva de energia, a partir da oxidação do enxofre a sulfato (MADIGAN *et al.*, 2010). A oxidação quimiolitotrófica do sulfeto, enxofre elementar ou tiosulfato, pode ocorrer em condições aeróbias, quando o aceptor final de elétrons é o oxigênio. Quando em anaerobiose o nitrato (NO₃⁻) ou nitrito (NO₂⁻) são usados como aceptores finais de elétrons, levando a formação de S⁰, SO₄²⁻ e NO₂⁻ ou N₂. Compreendem bactérias incolores capazes de oxidar quimiolitotroficamente o sulfeto gêneros como *Thiobacillus*, *Sulfolobus*, *Thermothrix*, *Thiothrix* e *Beggiatoa* (TANG *et al.*, 2009; POKORNA & ZABRANSKA, 2015).



Um resumo das principais rotas de oxidação e redução, produtos formados e micro-organismos envolvidos no ciclo do enxofre está apresentado na Tabela 2.4 abaixo.

Tabela 2.4 – Resumo das principais rotas do ciclo do enxofre e respectivos gêneros envolvidos

	Processo	Produto	Principais gêneros
Anóxico	Redução do SO_4^{2-}	H_2S	<i>Desulfobacter</i> , <i>Desulfobacterium</i> , <i>Desulfococcus</i> , <i>Desulfonema</i> , <i>Desulfosarcina</i> , <i>Desulfoarculus</i> , <i>Desulfoacinum</i> , <i>Desulforhabdus</i> , <i>Desulfomonile</i> , <i>Desulfotomaculumacetoxidans</i> , <i>Desulfotomaculumsapomandens</i> , <i>Desulfovibriobaarsii</i> , <i>Desulfovibrio</i> , <i>Desulfomicrobium</i> , <i>Desulfobotulus</i> , <i>Desulfofustis</i> , <i>Desulfotomaculum</i> , <i>Desulfomonile</i> , <i>Desulfobacula</i> , <i>Archaeoglobus</i> , <i>Desulfobulbus</i> , <i>Desulforhopalus</i> e <i>Thermodesulfobacterium</i>
	Oxidação incompleta do H_2S (fotossíntese anoxigênica)	S^0	<i>Chlorobium</i> , <i>Prosthecochloris</i> , <i>Pelodictyon</i> , <i>Ancalochloris</i> e <i>Chloroherpeton</i> (verdes sulfurosas); <i>Chromatium</i> , <i>Thioalkalicoccus</i> , <i>Thiorhodococcus</i> , <i>Thiocapsa</i> , <i>Thiocystis</i> , <i>Thiococcus</i> , <i>Thiospirillum</i> , <i>Thiodictyon</i> , <i>Thiopedia</i> e <i>Allochromatium</i> (púrpuras sulfurosas); <i>Rhodopseudomonas</i> sp., <i>Rhodobacter</i> e <i>Rhodospirillum</i> (púrpuras não sulfurosas), <i>Chloroflexus</i> (verde não sulfurosa).
	Oxidação completa do H_2S (fotossíntese anoxigênica)	SO_4^{2-}	<i>Desulfuromonas</i> , <i>Desulfurella</i> , <i>Sulfurospirillum</i> e <i>Campylobacter</i> .
	Redução do S^0	H_2S	<i>Desulfuromonas</i> , <i>Desulfurella</i> , <i>Sulfurospirillum</i> e <i>Campylobacter</i> .
Óxido	Oxidação incompleta do H_2S (quimiolitotrofia)	S^0	<i>Thiobacillus</i> , <i>Acidithiobacillus</i> , <i>Achromatium</i> , <i>Beggiatoa</i> , <i>Thiothrix</i> , <i>Thioplaca</i> , <i>Thiomicrospira</i> , <i>Thiosphaera</i> e <i>Thermothrix</i> .
	Oxidação completa do H_2S (quimiolitotrofia)	SO_4^{2-}	<i>Thiobacillus</i> , <i>Acidithiobacillus</i> , <i>Achromatium</i> , <i>Beggiatoa</i> , <i>Thiothrix</i> , <i>Thioplaca</i> , <i>Thiomicrospira</i> , <i>Thiosphaera</i> e <i>Thermothrix</i> .

2.5.3 Ciclo biológico do nitrogênio

A amônia livre (NH_3) ou ionizada (NH_4^+) é produzida a partir da decomposição de compostos orgânicos nitrogenados, como aminoácidos e nucleotídeos, por diversos grupos de microorganismos, num processo denominado amonificação (Figura 2.4). Amônia e nitrito (NO_2^-) são substratos quimiolitotróficos para oxidação aeróbia por bactérias nitrificantes (MADIGAN *et al.*, 2010).

O primeiro passo da nitrificação consiste na oxidação da amônia a NO_2^- , por bactérias oxidadoras de amônia (BOA, do inglês *ammonium oxidizing bacteria*) representadas por gêneros incluídos em *Betaproteobacteria* e *Gammaproteobacteria* como *Nitrosomonas*, *Nitrospira* e *Nitrosococcus*. A etapa seguinte à oxidação por BOA consiste na oxidação do NO_2^- a nitrato (NO_3^-) por bactérias oxidadoras de nitrito (BON, do inglês *nitrite oxidizing bacteria*)

como *Nitrobacter*, *Nitrospira* e *Nitrococcus* (Figura 2.4). A maioria das bactérias nitrificantes é quimiolitotrófica obrigatória e aeróbia obrigatória (MADIGAN *et al.*, 2010). A estequiometria das reações de oxidação aeróbia da amônia e do nitrito, está representada pelas Equações 2.9 e 2.10, respectivamente (AHN, 2006).

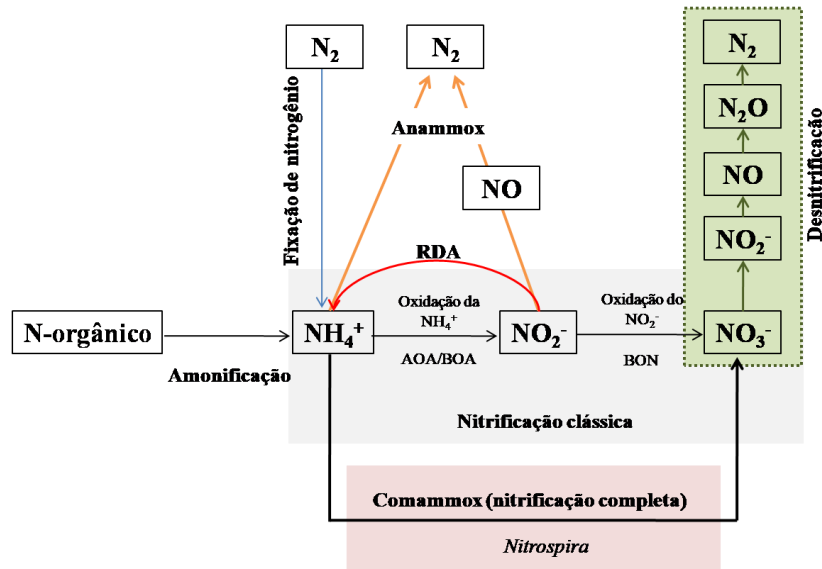
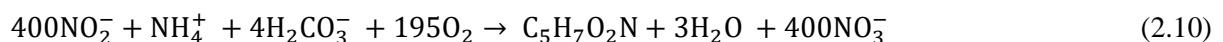
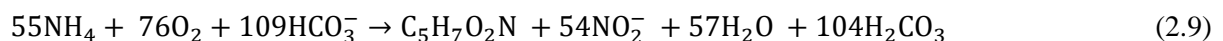


Figura 2.4 – Ciclo biológico do nitrogênio

Nota: RDA: redução desassimilatória para amônia; AOA: arqueia oxidadora de amônia; BOA: bactéria oxidadora de amônia; BON: bactéria oxidadora de nitrito.

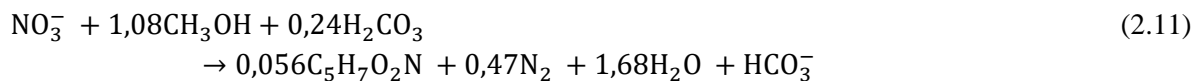
Fonte: Traduzido de Hu & He (2017)

Além destas bactérias, a oxidação da amônia pode ser realizada por arqueias (AOA, do inglês, *ammonia-oxidizing archaea*) denominadas *Candidatus* ‘*Nitrosopumilus maritimus*’ que são capazes de crescer usando amônia como única fonte de energia (YOU *et al.*, 2009). Desde o isolamento estas arqueias têm sido detectadas em fontes termais, ecossistemas marinhos, corpos de água doce e estações de tratamento de águas residuárias.



O nitrato por sua vez pode ser reduzido através da desnitrificação heterotrófica (Figura 2.4), em condições anóxicas. Uma variedade de doadores de elétrons e fontes de carbono podem ser usados, a exemplo do metanol, conforme representado na Equação 2.11 (AHN, 2006). A desnitrificação pode ser realizada por uma ampla variedade de micro-organismos, em maioria anaeróbios facultativos heterotróficos, como os gêneros *Bacillus*, *Paracoccus* e *Pseudomonas*

(MADIGAN *et al.*, 2010); são amplamente distribuídos incluindo também arqueias e até mesmo fungos (ZHU *et al.*, 2016).

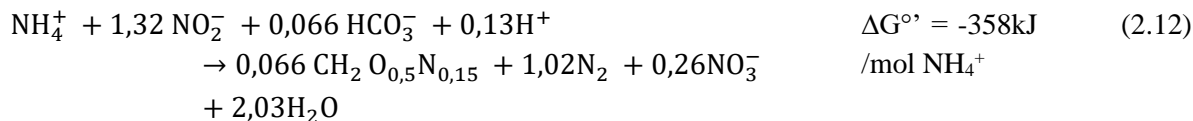


A oxidação da amônia via nitrito e nitrato foi considerado um processo de duas etapas por um longo período, até que em 2015 foi provada a oxidação completa da amônia (comammox) em um único micro-organismo (DAIMS *et al.*, 2015; VAN KESSEL *et al.*, 2015) (Figura 2.4). Estes estudos, pioneiros na identificação das bactérias capazes de oxidar a amônia completamente a nitrato, indicaram que organismos envolvidos no processo se encontram no gênero *Nitrospira*. Análises do genoma apontaram que as bactérias comammox apresentam um conjunto de genes funcionais que codificam todas as enzimas, ou seja, para a oxidação da amônia (amônia monooxigenase – AMO e hidroxilamina desidrogenase – HAO) e do nitrito (nitrito oxidoreductase – NXR), indicativo do potencial genético para nitrificação completa (DAIMS *et al.*, 2015; VAN KESSEL *et al.*, 2015; CAMEJO *et al.*, 2017). Todas as informações disponíveis apontam para habitats oligotróficos como nichos para comammox *Nitrospira*, devido sua alta afinidade pelo substrato (amônia), comparativamente baixa taxa de oxidação da amônia e alta taxa de crescimento comparado aos nitrificantes convencionais (HU & HE, 2017).

Além do método referenciado acima, uma alternativa para oxidação da amônia é o processo anammox (do inglês, *anaerobic ammonium oxidation*), que consiste na oxidação autotrófica da amônia. Até o final do século XX acreditava-se que o íon amônio era inerte na ausência de oxigênio; apesar de, na década de 1970, ter sido demonstrado estequiometricamente que a oxidação da amônia na ausência de oxigênio era possível (BRODA, 1977). Em 1995 a reação anammox foi pela primeira vez observada em reator desnitrificante de leito fluidizado aplicado ao tratamento de efluentes de um reator metanogênico, operado para degradação de resíduos da planta de produção de fermento, em Delft na Holanda (MULDER *et al.*, 1995). A reação do processo anammox em que a amônia é oxidada com o NO_2^- como aceptor de elétrons, produzindo nitrogênio gasoso (N_2) em condições anóxicas, está representada na Equação 2.12 (NI & ZHANG, 2013) e na Figura 2.4. Ainda que o gás nitrogênio seja o produto principal do processo anammox, cerca de 10% do nitrogênio é convertido em nitrato (AHN, 2006).

O processo anammox é catalisado por um grupo peculiar de micro-organismos anaeróbios obrigatórios, do filo *Planctomycetes*. Alguns representantes são: *Candidatus Brocadia*

anammoxidans, *Candidatus* *Kuenenia stuttgartiensis*, *Candidatus* *Scalindua brodae*, dentre outros (AHN, 2006).



Há ainda o processo que integra a nitrificação parcial/anammox, denominado deamonificação. A deamonificação consiste em um processo de duas etapas em que bactérias oxidadoras de amônia convertem metade da amônia a nitrito e bactérias anammox oxidam anaerobiamente a amônia residual usando nitrito para produzir nitrogênio gasoso, sem o carbono orgânico necessário para a desnitrificação heterotrófica convencional (WETT *et al.*, 2013).

2.5.4 Interação dos ciclos biológicos do carbono, enxofre e nitrogênio

Quando carbono, sulfeto e nitrogênio estão presentes numa mesma água residuária podem ser removidos através da interação dos ciclos desses elementos. Esta interação está representada de forma simplificada na Figura 2.5.

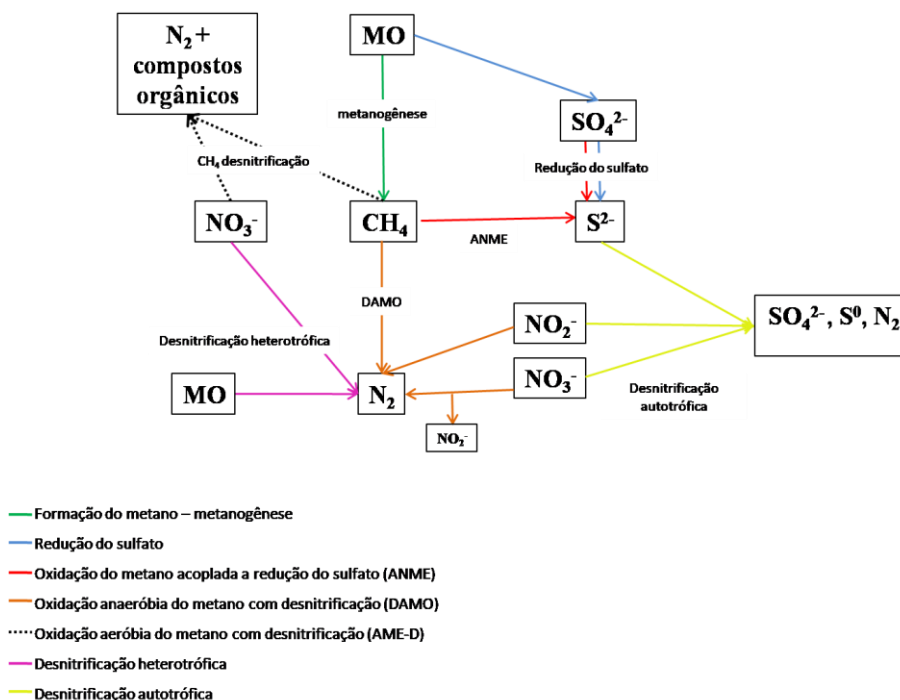


Figura 2.5 – Interação entre os ciclos biológicos do carbono, enxofre e nitrogênio

Fonte: Adaptado de Guerrero *et al.* (2015)

2.5.4.1 Interação entre os ciclos biológicos do carbono e enxofre

Em condições anaeróbias, a oxidação do metano (CH_4) pode ser associada à redução do sulfato (SO_4^{2-}). Este processo é mediado por uma comunidade sintrófica de arqueias metanotróficas (Arqueias Anaeróbias Metanotróficas, do inglês, *anaerobic methane-oxidizing archaea* - ANME), realizando metanogênese reversa, e bactérias redutoras de sulfato (BRS), que usam compostos excretados pelas arqueias como doadores de elétrons para redução de SO_4^{2-} (JAGERSMA *et al.*, 2009; TIMMERS *et al.*, 2017). A metanogênese reversa consiste na reversão completa da metanogênese hidrogenotrófica (TIMMERS *et al.*, 2017). A reação global de oxidação anaeróbia do CH_4 e redução do SO_4^{2-} está representada na Equação 2.13 (TIMMERS *et al.*, 2017):



Arqueias metanotróficas são representadas por três grupos filogeneticamente distintos do filo *Euryarchaeota*: ANME-1 (subgrupos a e b), ANME-2 (subgrupos a, b e c) e ANME-3. A ANME-1 está relacionada às ordens *Methanomicrobiales* e *Methanosarcinales*, a ANME-2 pertence à ordem *Methanosarcinales* e os membros da ANME-3 pertencem à *Methanococcales* spp. (Figura 2.6) (COSTA *et al.*, 2019; TIMMERS *et al.*, 2017). Os grupos de ANME não são monofiléticos uns com os outros e a distância filogenética entre os subgrupos é grande, com similaridade da sequência do rRNA 16S de apenas 75 a 92% (KNITTEL & BOETIUS, 2009).

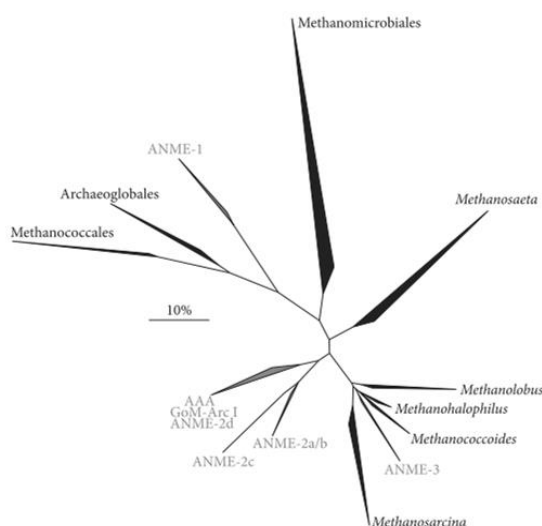


Figura 2.6 – Árvore filogenética baseada nas sequências do rRNA 16S mostrando a relação de ANME

Fonte: Timmers *et al.* (2017)

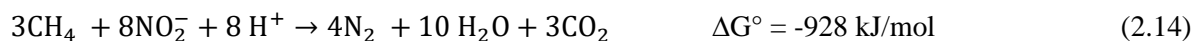
A presença de ANME tem sido reportada em ambientes marinhos anóxicos e uma diversidade de habitats continentais. ANME-1 e ANME-2 apresentam uma distribuição global, enquanto ANME-3 estão restritos a lamas vulvânicas sendo esporadicamente encontradas em outros ambientes (KNITTEL & BOETIUS, 2009).

Os grupos de ANME podem se associar com BRS específicas. *Desulfosarcina* e *Desulfococcus* se associam principalmente a ANME-1 e ANME-2, e *Desulfobulbus* com ANME-3 (THAUER, 2011). Além disso, podem ter relação com micro-organismos não redutores de sulfato como *Betaproteobacteria* e *Verrucomicrobia*; e não ter relação com nenhum outro organismo, como já observado para ANME-1 (JAGERSMA *et al.*, 2009). Já foram descritas associações de ANME com *Sphingomonas* spp. (*Alphaproteobacteria*) e *Burkholderia* spp. (*Betaproteobacteria*), embora sejam mais raras do que aquelas com *Deltaproteobacteria* (KNITTEL & BOETIUS, 2009).

2.5.4.2 Interação entre os ciclos do carbono e nitrogênio

A interação dos ciclos do carbono (através do metano) e nitrogênio pode ocorrer em aerobiose ou anaerobiose. A oxidação anaeróbia do metano pode ser associada à desnitrificação, com nitrito (NO_2^-) ou nitrato (NO_3^-) como aceptores de elétrons, num processo denominado oxidação anaeróbia do metano desnitrificante (do inglês – *denitrifying anaerobic methane oxidation*, DAMO) (CAI *et al.*, 2015). Micro-organismos DAMO apresentam taxa de crescimento extremamente lenta, de aproximadamente 1 a 2 semanas (ETTWIG *et al.*, 2009).

Bactérias *Candidatus Methyloirabilis oxyfera* (filo NC10) (DAMO bactéria) foram descritas como capazes de reduzir NO_2^- a nitrogênio gasoso (N_2) com metano como doador de elétron. Neste processo, a bactéria metanotrófica possui a habilidade de acoplar a oxidação do CH_4 a redução do NO_2^- , produzindo oxigênio necessário para a transformação inicial do CH_4 a metanol (ETTWIG *et al.*, 2010). Em condições anaeróbias é mais comum a metanogênese reversa acoplada a redução no NO_3^- a NO_2^- , por exemplo, por arqueias *Candidatus Methanoperedens nitroreducens* (ANME-2d; DAMO arqueia); este grupo de arqueias pode ainda manter uma relação sintrófica com anammox ou *Methyloirabilis oxyfera* culminando com a redução a N_2 (ALRASHED *et al.*, 2018). As reações mediadas por estes micro-organismos estão representadas nas Equações 2.14 e 2.15 (RAGHOEBARSING *et al.*, 2006; TIMER *et al.*, 2017):



A interação de micro-organismos DAMO e anammox pode ocorrer em coluna d'água e sedimentos, na interface óxica/anóxica, onde CH_4 e compostos nitrogenados estão presentes. *M. nitroreducens* é capaz de reduzir NO_3^- a NO_2^- , o qual é substrato para bactérias anammox e *M. oxyfera*. Por outro lado, anammox produzem NO_3^- que é substrato para *M. nitroreducens* (HU *et al.*, 2015). As relações entre micro-organismos do ciclo do nitrogênio (nitrificantes e anammox) e carbono (metanotróficas aeróbias e anaeróbias) podem ter implicações diversas na presença ou ausência de oxigênio, afetando desta forma, a remoção de nitrogênio e metano. Estas relações de dependência ou inibição pelo oxigênio estão apresentadas na Figura 2.7.

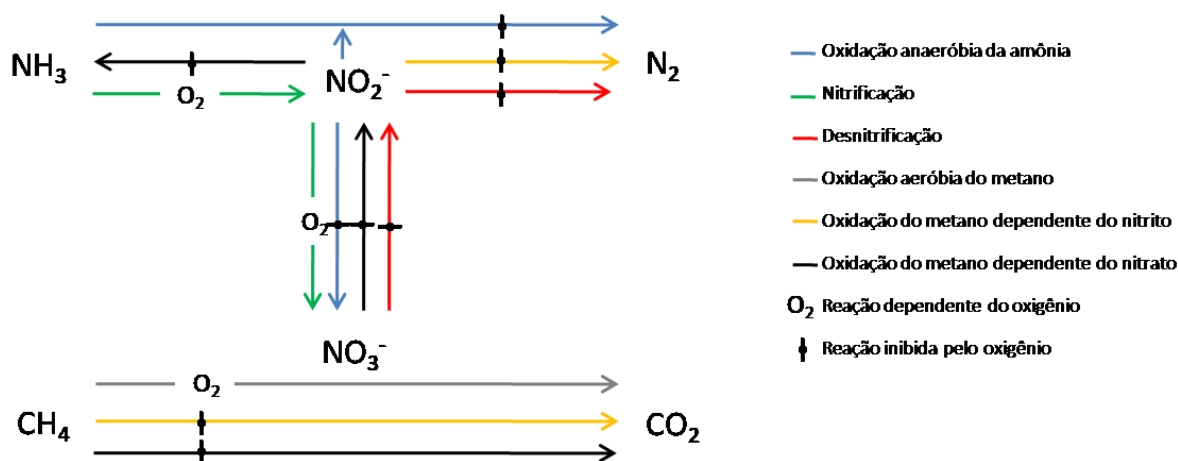


Figura 2.7 – Representação esquemática de um sistema combinado N-damo/anammox

Fonte: Van Kessel *et al.* (2018)

Adicionalmente, a oxidação do metano pode ser acoplada a desnitrificação em condições aeróbias (do inglês – *aerobic methane oxidation coupled to denitrification*, AME-D), resultando na formação de metanol, formaldeído ou acetato que podem em reação subsequente, ser fonte de carbono para a desnitrificação heterotrófica (Equação 2.16) (ZHU *et al.*, 2016). Metanotróficas como *Methylomicrobium*, *Methylomonas* e *Methylobacter* já foram descritas por serem capazes de realizarem tal processo (ALRASHED *et al.*, 2018).



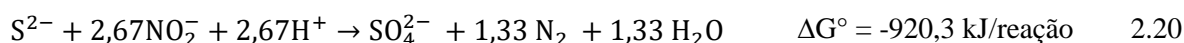
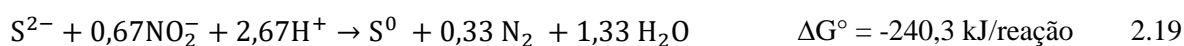
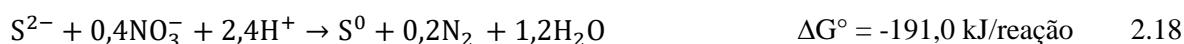
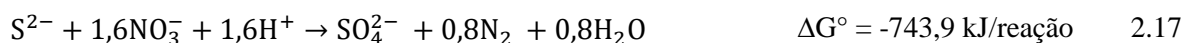
Cabe ressaltar que embora as metanotróficas e as bactérias oxidadoras de amônia (descritas nos tópicos 2.5.1 e 2.5.3, respectivamente) sejam grupos muito diversos, elas são muito similares no modo como oxidam seus substratos (amônia e metano). Essas semelhanças são importantes ao descrever microfloras que oxidam metano e amônia no mesmo ambiente, pois ambos os grupos de bactérias oxidam fortuitamente uma variedade de compostos. Sabe-se que a maioria dessas reações é catalisada por metano monooxigenase (MMO) e amônia monooxigenase (AMO); estas enzimas são análogas, permitindo que nitrificantes e oxidadoras de amônia sejam capazes de oxidar ambos os substratos (HANSON & HANSON, 1996; COSTA *et al.*, 2019).

2.5.4.3 Interação entre os ciclos do enxofre e nitrogênio

A interação entre os ciclos do enxofre e nitrogênio pode ocorrer pela desnitrificação autotrófica e pelo processo anammox.

A desnitrificação autotrófica permite com que compostos nitrogenados sejam removidos sem a adição de doadores de elétrons, que seriam necessários na desnitrificação heterotrófica convencional. A desvantagem deste último processo no pós-tratamento de efluente anaeróbio é devido a baixa disponibilidade de matéria orgânica para que ele ocorra (MORAES *et al.*, 2013). Assim, o sulfeto por estar presente no efluente anaeróbio pode ser usado como doador de elétrons para desnitrificação.

Na desnitrificação autotrófica acoplada a oxidação do sulfeto (ou outras formas reduzidas como S^0 , $S_2O_3^{2-}$, $S_4O_6^{2-}$ e SO_3^{2-}), formas oxidadas de nitrogênio (NO_3^- e NO_2^-) são usadas como aceptores de elétrons; os produtos da oxidação são S^0 ou SO_4^{2-} e, NO_3^- e NO_2^- são reduzidos a N_2 (TANG *et al.*, 2009). As Equações 2.17 e 2.18 mostram a oxidação completa e incompleta, respectivamente, do S^{2-} e redução do NO_3^- (FAJARDO *et al.*, 2012); a redução do NO_2^- acoplada a oxidação do S^{2-} está apresentada nas Equações 2.19 e 2.20 (POKORNA & ZABRANSKA, 2015).



Alguns micro-organismos envolvidos na desnitrificação autotrófica estão englobados no grupo de bactérias incolores do enxofre como *Thiobacillus*, *Acidithiobacillus*, *Achromatium*, *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Thioplaca*, *Thiomicrospira*, *Thiosphaera* e *Thermothrix* (TANG *et al.*, 2009). A maioria das bactérias oxidadoras de enxofre envolvidas na desnitrificação autotrófica são aeróbias facultativas, podendo usar oxigênio e compostos de nitrogênio como acceptor de elétrons (como *Thiobacillus denitrificans* e *Thioalkalivibrio denitrificans*) (LIN *et al.*, 2018); há ainda anaeróbias estritas, tal como *Sulfurimonas denitrificans*, que podem usar apenas NO_3^- e NO_2^- como acceptor de elétrons.

A razão molar N/S afeta o produto da desnitrificação autotrófica, a saber: N/S igual a 1,6 predomina oxidação completa a SO_4^{2-} e redução completa a N_2 , $\text{N/S} \geq 4$ ou $\text{N/S} \sim 1$ os produtos finais são SO_4^{2-} e NO_2^- ou S^0 e N_2 , respectivamente, $\text{N} \leq 0,4$ os produtos são S^0 e N_2 (CARDOSO *et al.*, 2006; MAHMOOD *et al.*, 2007 *apud* LIN *et al.*, 2018). A desnitrificação autotrófica é uma alternativa disponível ou suplementar à desnitrificação heterotrófica no caso de quantidade insuficiente de matéria orgânica biodegradável. Se um sistema contém ambos os tipos de desnitrificantes, é possível remover simultaneamente sulfeto, nitrato e substâncias orgânicas com alta eficiência.

A partir das reações que ocorrem nos processos de desnitrificação com diferentes doadores de elétrons, Peláz *et al.* (2017) apresentaram as razões estequiométricas entre eles conforme apresentado a seguir (Tabela 2.5).

Tabela 2.5 – Razões estequiométricas entre doadores e aceptores

Razões	NO_2^-	NO_3^-
Matéria orgânica (mg DQO/mg N)	2,4	4,0
S^{2-} (mg S/mg N)	1,4	2,3
CH_4 (mg CH_4 /mg N)	0,4	0,7

Um resumo dos ciclos biológicos dos elementos estudados e metabolismo dos micro-organismos está apresentado na Tabela 2.6.

Tabela 2.6 – Síntese dos processos envolvendo os ciclos dos componentes estudados (carbono, enxofre e nitrogênio), os principais grupos de micro-organismos envolvidos e energia livre de Gibbs

	Processo	Metabolismo	Equação	Micro-organismos	Energia livre de Gibbs (ΔG°)
Metano	Oxidação do CH ₄	Aeróbio	$\text{CH}_4 + 2\text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$	<i>Methylobacter, Methylococcus, Methylosinus, Methylocapsa, Methylocystis e Methylocella</i>	-778 kJ/molCH ₄ ⁽¹⁾
	Redução do SO ₄ ²⁻	Anaeróbio	$\text{SO}_4^{2-} + 8\text{e}^- + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{S}^{2-} + 8\text{OH}^-$	<i>Desulfobacter, Desulfobacterium, Desulfovibrio, Desulfomicrobium, etc</i>	Depende do doador de e ⁻
Enxofre	Oxidação do S ²⁻	Anaeróbio (fototrófico)	$2\text{H}_2\text{S} + \text{CO}_2 \rightarrow 2\text{S}^0 + \text{CH}_2\text{O (carb.)} + \text{H}_2\text{O}$	Púrpuras: <i>Chromatium, Thiocapsa, Thiocystis.</i> Verdes: <i>Chlorobium e Chlorobaculum</i>	75,36 kJ/mol ⁽²⁾
	Oxidação do S ²⁻	Aeróbio (quimiolitotrófico)	$\text{H}_2\text{S} + 2\text{O}_2 \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + 2\text{H}^+$	<i>Thiobacillus, Acidithiobacillus, Achromatium, Beggiatoa, Thiothrix, Thioplaca, Thiomicrospira, Thiosphaera, e Thermothrix (bactérias incolores)</i>	-798,2 kJ/reação ⁽³⁾
			$\text{HS}^- + 1/2 \text{O}_2 + \text{H}^+ \rightarrow \text{S}^0 + \text{H}_2\text{O}$		-294,4 kJ/reação ⁽³⁾
	Oxidação do S ⁰		$\text{S}^0 + 1,5\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + 2\text{H}^+$		-587,1 kJ/reação ⁽³⁾
Oxidação do S ₂ O ₃ ²⁻		$\text{S}_2\text{O}_3^{2-} + \text{H}_2\text{O} + 2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{SO}_4^{2-} + 2\text{H}^+$		-818,3 kJ/reação ⁽³⁾	
Nitrogênio	Oxidação da amônia	Aeróbio	$\text{NH}_4^+ + 1 \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_2^- + 2\text{H}^+ + \text{H}_2\text{O}$	<i>Nitrosomonas, Nitrospira e Nitrosococcus (BOA); Candidatus ‘‘N. maritimus’’</i>	-274,7 kJ/reação ⁽³⁾
	Oxidação do NO ₂ ⁻	Aeróbio	$\text{NO}_2^- + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_3^-$	<i>Nitrobacter, Nitrospira e Nitrococcus</i>	-74,1 kJ/reação ⁽³⁾
	Desnitrificação heterotrófica	Fonte de carbono (metanol)	$\text{NO}_3^- + 1,08 \text{CH}_3\text{OH} + 0,24 \text{H}_2\text{CO}_3 \rightarrow 0,056 \text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N} + 0,47 \text{N}_2 + 1,68 \text{H}_2\text{O} + \text{HCO}_3^-$	<i>Bacillus, Paracoccus e Pseudomonas</i>	

/Continua

	Processo	Metabolismo	Equação	Micro-organismos	Energia livre de Gibbs (ΔG°)
Nitrogênio	Oxidação completa da amônia (Comammox)	Aeróbio (quimiolitoautotrofia)	$\text{NH}_4^+ + 2\text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_3^- + \text{H}_2\text{O} + 2\text{H}^+$	<i>Candidatus Nitrospira nitrosa</i> <i>Candidatus Nitrospira nitrificans</i>	-348,9 kJ/mol ⁽⁴⁾
	Anammox	Anaeróbio	$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$	<i>Candidatus Brocadia anammoxidans</i> , <i>Candidatus Kuenenia stuttgartiensis</i> , <i>Candidatus Scalindua brodae</i> , <i>Candidatus Anammoxoglobus propionicus</i> , <i>Candidatus Scalindua wagnerie</i> <i>Candidatus Scalindua sorokinii</i>	-358 kJ/mol ⁽⁵⁾
	Oxidação do sulfeto	Desnitrificação autotrófica	$1,25\text{S}^{2-} + 2\text{NO}_3^- + 2\text{H}^+ \rightarrow 1,25\text{SO}_4^{2-} + \text{N}_2 + \text{H}_2\text{O}$ $\text{S}^{2-} + 0,67\text{NO}_2^- + 2,67\text{H}^+ \rightarrow \text{S}^0 + 0,33\text{N}_2 + 1,33\text{H}_2\text{O}$	<i>T. denitrificans</i> , <i>Thiomicrospiradenitrificans</i> , <i>Thiobacillus versutus</i> , <i>Thiosphaera pantotropha</i> , <i>Pseudomonas stutzeri</i> e <i>P. denitrificans</i>	-972,8 kJ/reação ⁽⁶⁾ -240,3 kJ/reação ⁽⁶⁾
Interação de ciclos	Oxidação do CH ₄ desnitrificante (DAMO)	Anaeróbio	$3\text{CH}_4 + 8\text{NO}_2^- + 8\text{H}^+ \rightarrow 4\text{N}_2 + 10\text{H}_2\text{O} + 3\text{CO}_2$ $\text{CH}_4 + 4\text{NO}_3^- \rightarrow 4\text{NO}_2^- + 2\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$	<i>Candidatus Methyloirabilis oxyfera</i> <i>Candidatus Methanoperedens nitroreducens</i>	-928 kJ/mol CH ₄ ⁽⁷⁾ -503 kJ/mol CH ₄ ⁽⁷⁾
	Oxidação do CH ₄ desnitrificante	Aeróbio (metanotróficas aeróbias e desnitrificantes convencionais)	$\text{CH}_4 + 1,1\text{O}_2 + 0,72\text{NO}_3^- + 0,72\text{H}^+ \rightarrow 0,36\text{N}_2 + \text{CO}_2 + 2,36\text{H}_2\text{O}$	<i>Methylobacter</i> e <i>Methylotenera</i>	
	Oxidação do CH ₄ acoplada à redução do SO ₄ ²⁻	Anaeróbio	$\text{CH}_4 + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}_2\text{O}$	<i>Methanosarcinales</i> , <i>Methanobacteriales</i> e <i>Methanomicrobiales</i>	-16,6 kJ/mol ⁽¹⁾

⁽¹⁾: Hanson e Hanson (1996); ⁽²⁾: Tang *et al.* (2009); ⁽³⁾: Madigan *et al.* (2010); ⁽⁴⁾: van Kessel *et al.* (2015); ⁽⁵⁾: Ahn (2006); ⁽⁶⁾: Pokorna & Zabranska (2015); ⁽⁷⁾: Wang *et al.* (2017)

2.6 Estratégias operacionais para tratamento de efluentes anaeróbios

2.6.1 Estratégias de aeração para tratamento de efluentes anaeróbios

Diferentes estratégias de aeração têm sido estudadas e aplicadas objetivando a remoção de compostos remanescentes em efluente anaeróbio. O suprimento de oxigênio é um fator chave, uma vez que determina, grosso modo, as rotas metabólicas favorecidas através das relações de oxidação e redução, influenciando o desempenho e eficiência do sistema. Diferentes configurações de reatores têm sido aplicadas para a remoção de metano, sulfeto e/ou nitrogênio através de técnicas de microaeração e aeração intermitente com biomassa suspensa ou aderida. Desta forma, os tópicos seguintes abordam estudos envolvendo tais técnicas no tratamento de esgotos.

2.6.1.1 Microaeração contínua

A microaeração tem sido utilizada para tratamento adicional de efluente anaeróbio, sobretudo como método para dessulfuração biológica. Esse método consiste na dosagem de pequenas quantidades de ar dentro de um reator (KRAYZELOVA *et al.*, 2014). Muitas vezes, o termo indica o gás usado no processo, a saber, microaeração para dosagem de ar e microoxigenação para oxigênio puro. A quantidade de ar e oxigênio dosado reflete no termo para denominar o processo. Para menores dosagens o prefixo “micro” tem sido usado, com o aumento gradativo da dose usa-se limitado, moderado ou aeração/oxigenação (Figura 2.8) (KRAYZELOVA *et al.*, 2015).

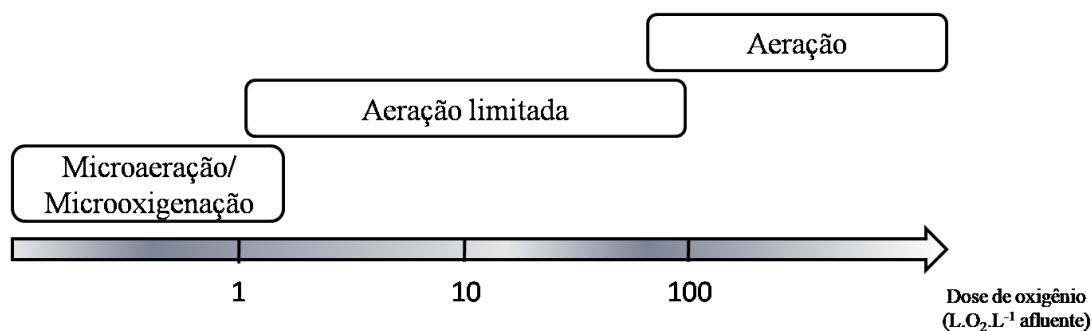


Figura 2.8 – Terminologia para dosagem de ar/oxigênio baseada na quantidade de oxigênio dosado

Fonte: Traduzido de Krayzelova *et al.* (2015)

A microaeração possui o potencial de remoção de espécies orgânicas e inorgânicas reduzidas e metano dissolvido (KHAN *et al.*, 2011). Esta técnica já foi apontada como uma alternativa para

remoção de sulfeto dissolvido do efluente de UASB (KHAN *et al.*, 2011) e a limitação de oxigênio favorece a oxidação parcial do sulfeto a S^0 (CAMILOTI *et al.*, 2016).

A microaeração também já foi indicada como método possível para a remoção de metano (CH_4) em efluente (KHAN *et al.*, 2011). Hartley & Lant (2006) utilizando reator AMBR (do inglês, *anaerobic migrating bed reactor*) realizaram microaeração a partir da recirculação do biogás, alcançando uma redução na concentração de metano dissolvido.

A remoção de nitrogênio amoniacal via metabolismo microbiano pode ser alcançada sem aeração total, quando o processo envolve a combinação da nitrificação parcial e oxidação anaeróbia da amônia (anammox) (GILBERT *et al.*, 2014). Em condições de oxigênio limitantes bactérias oxidadoras de amônia (BOA) e de nitrito (BON) competem pelo oxigênio, sendo uma das principais estratégias para suprimir BON (PÉREZ *et al.*, 2014). Uma vez que a atividade das bactérias oxidadoras de nitrito seja limitante, a competição dessas com bactérias anammox é minimizada permitindo assim a remoção do nitrogênio amoniacal usando o nitrito como aceptor de elétrons para produzir nitrogênio gasoso. De modo mais relevante, a aeração intermitente (descrita no tópico 2.6.1.2 a seguir) tem sido uma condição metodológica útil para remoção de compostos nitrogenados e proporciona a redução dos custos de operação associados a aeração com elevada eficiência de remoção.

Vale salientar que embora a ausência de oxigênio seja necessária no tratamento anaeróbio para conversão da matéria orgânica e produção de metano pelas metanogênicas, a introdução moderada de oxigênio em sistemas anaeróbios pode não acarretar em toxicidade aos microorganismos anaeróbios obrigatórios, devido à penetração limitada deste gás no biofilme (KHAN *et al.*, 2011). No lodo granular as metanogênicas são menos afetadas à presença do oxigênio dissolvido (OD), devido o gradiente de OD que se forma no grânulo, quando comparado ao lodo floculento. A estrutura em multicamadas no lodo granular anaeróbio permite com que anaeróbias facultativas sejam predominantes na periferia do grânulo, enquanto as metanogênicas, sensíveis ao oxigênio, ficam localizadas em camadas mais profundas, protegidas da exposição ao ar (KRAYZELOVA *et al.*, 2015).

Yu *et al.* (2014) ressaltaram a importância em controlar os níveis de OD a fim de evitar prejuízo no desempenho dos reatores, caso a comunidade microbiana seja afetada. Contudo, Janssen *et al.* (1995) não indicaram o OD como um bom parâmetro para a microaeração já que, no caso dos compostos de enxofre, a formação de S^0 ou SO_4^{2-} ocorre em concentrações de OD abaixo

de $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$, que é o menor limite de detecção dos eletrodos de oxigênio comumente disponíveis. Segundo Krayzelova *et al.* (2015) o potencial de óxido-redução (pOR) parece constituir o melhor parâmetro de controle para caracterizar os sistemas microaeróbios.

Uma variedade de pOR já foi apresentada na literatura como menor que -460 mV (DUANGMANEE *et al.*, 2007 *apud* KRAYZELOVA *et al.*, 2015), entre -320 a -270 mV (NGHIEM *et al.*, 2014), -230 a -180 mV (KHANAL *et al.*, 2003), 0 a -200 mV (KOBAYASHI *et al.*, 2012) e maior que -150 mV (XU *et al.*, 2012). A grande variação do potencial de óxido-redução é provavelmente causada pela singularidade de cada sistema e suas condições operacionais. Além disso, muitas vezes não fica claro se os resultados são expressos como ORP_H (eletrodo de hidrogênio) ou como ORPAg (eletrodo de cloreto de prata) como referência (KRAYZELOVA *et al.*, 2015). E ainda, muitos estudos sequer citam qual o pOR foi medido nos sistemas de tratamento.

A análise da literatura em relação às pesquisas empregando a técnica de microaeração e remoção de compostos como os de enxofre, carbono e/ou nitrogênio de efluente anaeróbio, permite inferir que não há convergência em relação a alguns critérios adotados para aperfeiçoamento dos sistemas. Cabe destacar alguns parâmetros relevantes e que não apresentam consenso entre as pesquisas da área como: quantidade de ar ou oxigênio dosado no reator, escolha do principal parâmetro de monitoramento do sistema, concentração de OD, relação com as diferentes configurações de reatores (com ou sem meio suporte, com aeração em compartimento separado, por exemplo), com ou sem inoculação, dentre outras variáveis.

A taxa de ar aplicada (ou a concentração ideal de oxigênio dissolvido) é um dos pontos chave na adoção da microaeração como estratégia operacional para tratamento de efluentes. Entretanto, muitos estudos não reportam ambos os parâmetros e há muita variação nestes valores. Podem ser observados estudos com concentração de OD igual a $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ (SILVA-TEIRA *et al.*, 2017), $0,02$ a $0,35 \text{ mg.L}^{-1}$ (XU *et al.*, 2017), $<2 \text{ mg.L}^{-1}$ (COSTA *et al.*, 2019), $<0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ (VALDÉS *et al.*, 2016); e taxas variadas como $0,75 \text{ L.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (XU *et al.*, 2017), $0,10 \text{ L.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (MATSUURA *et al.*, 2015) a $25,8 \text{ L.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (SOUSA *et al.*, 2017). Em relação à configuração dos reatores, as medidas do diâmetro e da altura, e a razão entre eles, podem influenciar na transferência do ar dentro do sistema.

Além das questões supracitadas, a maioria dos trabalhos emprega efluente sintético, dessa forma a carga aplicada dos poluentes é muito superior as medidas no esgoto real, tornando a

aplicação neste último caso mais complicada. Embora a técnica possa ser eficaz na remoção de sulfeto (com formação de S^0), de CH_4 dissolvido e NH_3 no pós-tratamento do efluente anaeróbio, é importante que para remoção biológica as condições sejam ideais para crescimento e manutenção dos diferentes micro-organismos envolvidos nas conversões dos elementos no sistema. Ademais, para que o processo seja eficiente o monitoramento das variáveis supracitadas deve ser realizado também de forma que a digestão anaeróbia não seja prejudicada e a introdução do ar ocorra de modo a melhorar a qualidade global do efluente.

2.6.1.2 Aeração intermitente

As transformações biológicas necessárias para remoção de compostos nitrogenados em efluente tratado exigem um controle eficaz da disponibilidade de oxigênio para os micro-organismos. Em sistemas convencionais, a remoção da amônia ocorre pela nitrificação aeróbia e desnitrificação anóxica. Estes processos requerem a adição de energia para a aeração, quando sistemas com aeração mecanizada são adotados, e matéria orgânica para desnitrificação (MA *et al.*, 2015). Assim, a demanda por sistemas de um único estágio tem aumentado, a fim de evitar a adição de carbono externo e alcançar economia de alcalinidade (SILVA *et al.*, 2018).

A descoberta das bactérias anammox permitiu a remoção autotrófica da amônia, uma vez que estas bactérias podem reduzir nitrito com amônia como doador de elétrons e com CO_2 como fonte de carbono. Na remoção biológica do nitrogênio pelo processo anammox parte da amônia é oxidada a nitrito pelas bactérias oxidadoras de amônia, posteriormente as bactérias anammox oxidam a amônia remanescente a N_2 usando NO_2^- como acceptor de elétrons.

A aeração intermitente (AI) tem sido um método eficaz na supressão de bactérias oxidadoras de nitrito (BON) em reatores de um estágio para tratar efluente doméstico, melhorando a eficiência de remoção de nitrogênio, além de reduzir requisito de espaço, tempo e demanda de aeração (MORAES *et al.*, 2013). Interromper a aeração (período anóxico) quando o NO_2^- começa a acumular no reator permite que ele seja consumido pelas anammox, uma vez que a ausência da aeração inibe o crescimento das BON (MA *et al.*, 2015). No período aerado a amônia é oxidada a NO_3^- ou NO_2^- (MORAES *et al.*, 2013). A AI requer menor suprimento de ar (em relação à aeração contínua), sem perda da eficiência do processo (YANG *et al.*, 2015).

Diversas concentrações de oxigênio dissolvido e ciclos de aeração podem ser encontrados na literatura para sistemas com AI (Tabela 2.7). Em relação à configuração dos reatores os que operam em batelada seqüencial são mais comumente utilizados para a simultânea nitrificação e

desnitrificação. Entretanto, além da AI, imobilização de biomassa e distinção na alimentação podem ser utilizados para melhorar a eficiência do processo como exposto na Tabela 2.7. Com relação aos períodos aeróbio/anóxico, segundo Silva *et al.* (2018) eles são determinantes na eficiência dos processos e a concentração de compostos nitrogenados no efluente.

A imobilização da biomassa em meio suporte, além de favorecer a retenção de micro-organismos, reduz a sua perda com o efluente. Adicionalmente, limitações na difusão do oxigênio no biofilme leva a condições anóxicas na parte interna, favorecendo a desnitrificação nesta região, enquanto que a nitrificação ocorre na superfície aerada (MORAES *et al.*, 2013).

Moraes *et al.* (2013) e Santos *et al.* (2018) avaliaram o uso do sulfeto como doador de elétrons para desnitrificação autotrófica com aeração intermitente. A importância da remoção simultânea de nitrogênio e sulfeto se dá pela presença destes em efluente anaeróbio. No entanto, em ambos os trabalhos foi reportado que o sulfeto inibiu a atividade dos micro-organismos nitrificantes em concentrações iguais a 220,0 mgSTD.L⁻¹ (SANTOS *et al.*, 2018) e 11,6 mgSTD.L⁻¹ (MORAES *et al.*, 2013).

Silva *et al.* (2018) observaram que a aeração intermitente contribuiu para diminuição da demanda por alcalinidade, diminuiu consumo de energia para aeração e a quantidade de lodo em excesso. Os autores ressaltaram que ocorreu uma clara dependência entre períodos aerados e não aerados para disponibilidade de elétrons e manutenção da atividade dos micro-organismos na mesma unidade. A remoção de nitrogênio amoniacal variou de 42 a 82% nos ciclos 60min *on*/180min *off* e 60min *on*/60min *off*, respectivamente.

Ma *et al.* (2015) avaliaram os efeitos da aeração intermitente com baixas concentrações de OD (<1 mg.L⁻¹) para remoção de nitrogênio pelo processo anammox. A remoção de nitrogênio total variou de 60 a 85% no sistema de tratamento empregado conforme apresentado na Tabela 2.7.

Com base no exposto, pode-se inferir que a adoção da aeração intermitente é uma importante estratégia operacional para tratamento biológico de compostos nitrogenados de efluentes, possibilitando redução de custos de operação em relação às técnicas de aeração convencional.

Tabela 2.7– Características de reatores submetidos a aeração intermitente para remoção de compostos nitrogenados de efluente anaeróbio

Tipo	Reator		Volume (L)	TDH (h)	Meio suporte	Ciclo de aeração (min)		OD/ taxa de ar	Referência
	Altura (m)	Largura (m)				Aeróbio (on)	Anóxico (off)		
Reator de biofilme em batelada sequencial	0,33	0,18	7,5	18,8	Espuma de poliuretano	116	116	Variável / 20 L.h ⁻¹	Moraes <i>et al.</i> (2013)
Reator em batelada sequencial	NI	NI	10	Ciclos de 24h	Não	30	30	0,15-0,5 / NI	Maet <i>et al.</i> (2015)
						30	60		
						15	15		
Reator de biofilme de leito móvel	NI	NI	200	32,16 a 45,84	Não	45	15	1,5-3,5 / 800 -1500 L.h ⁻¹	Yang <i>et al.</i> (2015)
Reator em batelada sequencial	NI	NI	10	12,5	Não	8	21	0,8-1,2	Miao <i>et al.</i> (2018)
Reator de leito estruturado submetido a AI	0,8	0,14	9,6	18	Espuma de poliuretano	120	60	84 L.h ⁻¹	Santos <i>et al.</i> (2018)
Reator de leito estruturado com recirculação e AI	0,9	0,14	9,6	12	Espuma de poliuretano	120	60	NI	Silva <i>et al.</i> (2018)
						60	60		
						45	75		
						60	120		
60	180								
Reator em batelada sequencial	NI	NI*	8	67,2	Não	30	15	0-0,21 / 1,2 L.h ⁻¹	Qiu <i>et al.</i> (2019)
Reatores de biofilme	NI	NI	4	12 e 24	Não	2	10		Sun <i>et al.</i> (2019)

NI: não informado; *razão altura/diâmetro igual a 1,4

2.6.2 Utilização da luz para tratamento de efluentes anaeróbios

O tratamento de águas residuais com bactérias fotossintéticas (PSB) pode ocasionar a redução da poluição e recuperação de recursos simultaneamente, e pode ser aplicado para diversos tipos de efluentes, dada a versatilidade deste grupo (LU *et al.*, 2017; MENG *et al.*, 2017). Estas bactérias apresentam uma diversidade de vias metabólicas tais como autotrófica, heterotrófica e mixotrófica que permite a adaptação em ambientes distintos (LU *et al.*, 2019).

Complementarmente ao uso da luz como fonte de energia, estas bactérias podem usar matéria orgânica, sulfeto e nitrogênio amoniacal como doador de hidrogênio e como fonte de carbono para realização do processo fotossintético (MADIGAN *et al.*, 2010).

No tratamento de esgoto com bactérias fototróficas o fator de influência mais importante é a condição luz-oxigênio. Estas bactérias podem sobreviver nas condições: anaeróbio/luz, aeróbio/escuro e luz natural/microaeróbio (MENG *et al.*, 2017). Na ausência de oxigênio e presença de luz, as bactérias fototróficas realizam fotossíntese e fermentação para produzir energia. Já com a presença de oxigênio e no escuro elas realizam respiração para degradar matéria orgânica que é usada como fonte de energia e carbono para crescimento (GUPTA *et al.*, 2013).

Meng *et al.* (2017) avaliaram os efeitos de diferentes concentrações de OD em cultura com *Rhodopseudomonas*, em fotobiorreatores (1 L) com meio sintético e alta concentração de DQO (6650,0 mg.L⁻¹) e amônia (290,0 mg.L⁻¹). As concentrações de OD foram <0,5, 0,5 a 1,0, 1,0 a 2,0, 2,0 a 4,0 e 4,0 a 8,0 mg.L⁻¹, e luz natural. A melhor remoção de amônia (83%) e DQO (93%) foi observada com OD entre 4,0 - 8,0 mg.L⁻¹, mas os autores destacaram que as eficiências foram satisfatórias entre 1,0 a 2,0 e 2,0 a 4,0 mgOD.L⁻¹ e recomendadas, já que implicaria em redução nos custos da aeração.

O tratamento de efluente de soja, em escala laboratorial, com cultura pura de *Rhodobacter sphaeroides* foi avaliado em três condições de luz e aeração: luz artificial/microaeração, luz natural/microaeração (0,5 a 1,0 mgOD.L⁻¹) e escuro/aeróbio (2,0 mgOD.L⁻¹) (LU *et al.*, 2017). Com luz natural e microaeração foi observada elevada remoção de DQO (96%), carbono orgânico total (91%), nitrogênio (70%) e fósforo (93%). O nitrogênio e DQO removidos nesta condição foram convertidos em biomassa. A luz natural e microaeração permitiram ambos os

metabolismos para as bactérias fototróficas, ou seja, na degradação e recuperação dos poluentes.

O tratamento de efluente de cervejaria por *Rhodobacter sphaeroides* em biorreator de membrana com luz artificial/anaeróbio, luz natural/microaeróbio (0,5 a 1,0 mgOD.L⁻¹) e escuro/aeróbio (2,0 mgOD.L⁻¹) foi estudado por Lu *et al.* (2013). A remoção de matéria orgânica foi maior quando o biorreator foi operado com luz natural/microaeração e escuro/aeróbio, com eficiências iguais a 92% e 93%, respectivamente. Da mesma forma, a produção de biomassa foi superior nestas condições. Considerando a diferença na concentração de oxigênio dissolvido nas duas situações operacionais, os autores concluíram que a avaliação conjunta da remoção de poluentes, produção de biomassa e consumo de energia faz com que a condição luz natural/microaeração seja a melhor escolha no tratamento de esgotos com bactérias fototróficas.

Além das vantagens na remoção de compostos associadas ao metabolismo fototrófico, salienta-se que estes micro-organismos podem concentrar os nutrientes, possibilitando sua recuperação. Isto foi observado por Hulsen *et al.* (2016) no tratamento de esgoto doméstico em biorreator de membrana foto-anaeróbio (luz artificial), sem inoculação, para remoção simultânea de nutrientes e matéria orgânica. Após 22 dias de experimento o reator ficou com cor púrpura, dado o crescimento predominante de bactérias sulfurosas púrpuras, confirmado por sequenciamento de nova geração. A eficiência de remoção de DQO, nitrogênio e fósforo foi superior a 90% em quase todos os estágios testados. A assimilação de compostos foi confirmada e afirma a possibilidade de recuperação de energia e nutrientes através da biomassa.

Uma cultura mista de bactérias fototróficas foi usada para tratar efluente de estrume de aves (sintético) com elevada concentração de N-NH₄⁺, em frascos de 500 mL, com luz artificial e concentrações variadas de oxigênio (de micro a oxigenação) ou anaerobiose (ZHOU *et al.*, 2015). A cultura foi efetiva na remoção de N-NH₄⁺ e matéria orgânica quando as concentrações de oxigênio dissolvido foram mais baixas (0,5 a 1,5 mg.L⁻¹), na presença de luz e para acumulação de compostos na biomassa.

O estudo sobre a degradação de poluentes do esgoto em reatores fototróficos com luz natural tratando esgoto doméstico é ainda incipiente. A maioria dos trabalhos já publicados para tratamento de efluente, doméstico ou industrial, envolveu cultura pura de bactérias fototróficas. Biorreatores expostos à luz solar, tratando efluente doméstico real e sem inoculação têm sido

estudados pelo nosso grupo de pesquisa desde o ano 2010, para pós-tratamento de efluente de reator UASB. O sistema se destacou pelas condições testadas e demonstrou efetividade para remoção de sulfeto dissolvido, DQO e sólidos e formação de S^0 (AZEVEDO *et al.*, 2018; GARCIA *et al.*, 2017).

2.7 Remoção biológica dos elementos estudados em sistemas de tratamento de esgotos

Este tópico abrange estudos sobre a remoção de metano, sulfeto (e outros compostos de enxofre) e amônia (e outros compostos nitrogenados) de efluentes de sistemas de tratamento de esgotos com configurações diversas e sob distintas condições de aeração (microaeração contínua e aeração intermitente) e/ou luz.

2.7.1 Remoção biológica do metano

A maior parte do metano da atmosfera é produzida através da metanogênese, etapa final da fermentação da matéria orgânica, que pode ocorrer em campos de arroz, no trato digestivo de animais, solos, zonas úmidas e aterros, sedimentos de água doce e marinhos, dentre outros (KNITTEL & BOETIU, 2009). O metano é um gás incolor e inodoro que é emitido de fontes naturais e antropogênicas, e fornece energia ou calor por combustão (AIMEN *et al.*, 2018; STRONG *et al.*, 2015).

Nos sistemas anaeróbios de tratamento de esgotos, parte do metano gerado permanece no efluente tratado a depender da pressão parcial deste no biogás, temperatura e grau de supersaturação. O CH_4 dissolvido é, portanto, liberado na atmosfera quando o efluente tratado é lançado (MATSUURA *et al.*, 2015). Para diminuir as emissões de gás de efeito estufa (GEE) nos sistemas de tratamento anaeróbio, o metano dissolvido precisa ser eliminado através de alternativas de pós-tratamento capazes de remover e/ou recuperar este gás, tornando estes processos mais viáveis ambientalmente. A coleta e disposição do metano são tecnicamente problemáticas e dispendiosas. Uma alternativa de baixo custo aos métodos convencionais é a oxidação microbiana do metano (AIMEN *et al.*, 2018).

A quase totalidade das pesquisas envolvendo a remoção biológica do metano está associada à remoção de outros compostos, em especial os nitrogenados, visto que o CH_4 é um potencial doador de elétrons para a desnitrificação. Seu uso é vantajoso, uma vez que reduz os custos do processo, já que é produzido em sistemas anaeróbios e possibilita sua utilização no local onde é produzido, sendo ambientalmente e economicamente favorável; além de contribuir para

minimização da eutrofização (ZHU *et al.*, 2016). A oxidação anaeróbia do metano acoplada à desnitrificação representa um novo modo de acoplar a remoção de metano residual e nitrogênio, que pode ocorrer em condições anóxicas sem fonte externa de carbono (VAN KESSEL *et al.*, 2018).

A literatura da área apresenta trabalhos desenvolvidos para a remoção simultânea de metano e nitrogênio de águas residuárias, conforme exposto a seguir.

Alrashed *et al.* (2018) avaliaram a oxidação do metano acoplada a desnitrificação em reator de biofilme de membrana (MBfR). O reator foi alimentado com efluente sintético, metano como doador de elétrons e inoculado com amostras de lodos ativados. Em condição denominada hipóxica pelos autores, ou seja, com concentrações muito baixas de oxigênio ($0,2$ a $0,3 \mu\text{g.L}^{-1}$) até 85% do nitrato foi removido. Análise metagenômica indicou a presença de genes envolvidos na oxidação aeróbia do CH_4 , da redução do NO_3^- e ausência de arqueias (como as responsáveis pela metanogênese reversa). Além disso, os resultados sugeriram que ocorreu uma interação sintrófica entre metanotróficas, representadas principalmente pela família *Methylocystaceae*, e diversas bactérias desnitrificantes (*Comamonadaceae* e *Brucellaceae*) sugerindo oxidação aeróbia do CH_4 acoplada à redução do NO_2^- (Tabela 2.8).

Peláz *et al.* (2017) estudaram o pós-tratamento de efluente de biorreator anaeróbio de membrana (AnMBR) tratando esgoto doméstico, em biorreator anóxico de filme fixo com inoculação (lodo secundário de ETE e lodo termofílico com coexistência de metanogênicas e redutoras de nitrato/nitrito). O objetivo da pesquisa foi avaliar a viabilidade do uso de CH_4 , S^{2-} e matéria orgânica, provenientes do tratamento em AnMBR, como doadores de elétrons para remoção de NO_2^- e NO_3^- . A matéria orgânica remanescente foi removida através da desnitrificação heterotrófica. O metano foi oxidado a CO_2 e o sulfeto a S^0 , mas principalmente a SO_4^{2-} . O sistema apontou 100% de eficiência de remoção de NO_2^- e NO_3^- , que foram convertidos a N_2 , sendo que o CH_4 foi, segundo os autores, o principal doador de elétrons uma vez que estava presente em maior quantidade na fase líquida. O melhor cenário foi observado com tempo de detenção hidráulica de 2h e 18°C (Tabela 2.8).

Silva-Teira *et al.* (2017) avaliaram a remoção concomitante de metano e nitrogênio do efluente de reator UASB em biorreator de membrana (MBR) com câmara anóxica ($0,1 \text{ mgO}_2.\text{L}^{-1}$) a aeróbia (concentração média de $2,8 \text{ mgO}_2.\text{L}^{-1}$). Os autores observaram remoção de CH_4 de 80 a 95% (temperatura de 17 a 23°C), remoção quase total da amônia na câmara aeróbia, mas

parcial do nitrato. Além da oxidação com CH₄, possivelmente ocorreram desnitrificação heterotrófica e anammox. A investigação dos grupos microbianos envolvidos nos processos apontou a presença de metanotróficas tipo I, micro-organismos DAMO, envolvidos na oxidação anaeróbia do metano desnitrificante e anammox, enriquecidos após inoculação com lodo ativado (Tabela 2.8).

O pós-tratamento de efluente de reator UASB para remoção de CH₄ em reator de fluxo descendente e esponja em suspensão de dois estágios (DHS 1 e 2) foi avaliada por Matsuura *et al.* (2015). Os reatores DHS foram preenchidos com espuma de poliuretano, o DHS 1 foi projetado para recuperar metano na forma gasosa e o DHS 2 para remoção do CH₄ dissolvido (taxa de ar de 2500 L.m⁻³.d⁻¹). O sistema UASB/DHS foi operado em diferentes temperaturas (10 - 28°C). A quantidade de CH₄ dissolvido no efluente de UASB variou de 46% (verão) a 68% (inverno) (Tabela 2.8), indicando a influência direta da temperatura na perda desse gás em sistemas de tratamento. O metano residual do DHS 1 foi oxidado no DHS 2, com eficiência superior a 99% em todo período experimental. A presença de bactérias relacionadas aos gêneros *Methylomicrobium*, *Methylomonas*, *Methylocystis* e *Methylocaldum* detectadas no sistema confirmaram a remoção do metano dissolvido no efluente anaeróbio por via biológica (MATSUURA *et al.*, 2015). O oxigênio introduzido no pós-tratamento foi, segundo os autores, um dos parâmetros mais importantes para remoção e recuperação de metano. Além do CH₄, o trabalho ainda aponta que parte do oxigênio adicionado ao sistema foi usada por micro-organismos oxidadores de sulfeto, uma vez que a concentração de sulfato aumentou no pós-tratamento em relação ao efluente de UASB.

O pós-tratamento de efluente de reator UASB em reator de fluxo descendente e esponja de suspensão (DHS) para oxidação biológica de metano e amônia, com diferentes taxas de fluxo de ar e tempos de detenção hidráulica, foi estudado por Hatamoto *et al.* (2010). Com TDH de 2h e fluxo de ar igual a 800 L.m⁻³.d⁻¹ a eficiência de remoção de CH₄ alcançou 95% (Tabela 2.8). Com esta mesma taxa de fluxo de ar e TDH de 1h, a oxidação de amônia foi de apenas 10%, bem inferior aos 70% alcançado na fase anterior. A oxidação do CH₄ prevaleceu em relação à da amônia indicando que os grupos de micro-organismos (bactérias oxidadoras de metano e bactérias oxidadoras de amônia) competiram pelo oxigênio disponível. Amostras de lodo submetidas a análises para identificação microbiana apontaram o predomínio de gêneros de bactérias afiliados às metanotróficas como *Methylobacter* e *Methylomonas* e gêneros nitrificantes como *Nitrospira* e *Nitrosomonas*.

Nas reações em que o metano é usado como doador de elétrons para a desnitrificação e o oxigênio está presente em baixas concentrações, o uso do CH₄ na desnitrificação pode ocorrer de acordo com dois mecanismos principais: organismos desnitrificantes usam o CH₄ como doador de elétrons e NO₃⁻/NO₂⁻ como aceptores de elétrons, sem a participação do oxigênio no processo; bactérias metanotróficas produzem compostos orgânicos intermediários (por exemplo, metanol) sob baixa pressão parcial de oxigênio que são utilizados por bactérias desnitrificantes aeróbias, anaeróbias ou facultativas (FORESTI *et al.*, 2006).

Em reatores em batelada sequencial (RBS), Costa *et al.* (2019) avaliaram a dinâmica da comunidade metanotrófica, oxidação do CH₄ e redução do NO₃⁻ em condições microóxicas (< 2,0 mgOD.L⁻¹) e anóxica, de modo intermitente, tratando efluente sintético e inóculo proveniente de lodo de reator UASB. A oxidação do CH₄ e consumo de NO₃⁻ ocorreram preferencialmente em condições microaerófilas. A avaliação da comunidade microbiana através do sequenciamento do DNAr 16S indicou baixa dominância e elevada riqueza em ambos os reatores. Maior abundância de *Methylococcales* e *Nitrospira* foi observada no reator microaerófilo (2,0% e 28,3%, respectivamente) em comparação ao reator anóxico (inferior a 0,5% e 26,6%, respectivamente). Em contrapartida, maior abundância de arqueia oxidadora anaeróbia de metano (*Methanosarcinales*) foi observada no reator anóxico (4,0%) em relação ao microóxico (3,5%). Os autores destacaram que nitrificantes e oxidadoras de metano podem competir por substrato e se estabeleceram em condições de oxigênio limitante. Ademais, a oxidação do metano em condições anóxica e hipóxica foi realizada por grupos de micro-organismos distintos.

A avaliação da remoção simultânea de amônia e metano, por nitrificação parcial-anammox e oxidação anaeróbia do metano com desnitrificação, de efluente de digestão anaeróbia de lodo em reator de biofilme de membrana (MBfR) foi realizada por Chen *et al.* (2015). Os processos de bioconversão e estrutura da comunidade microbiana no biofilme foram avaliados através de modelos matemáticos. Com base nas simulações, as eficiências de remoção de amônia e metano do sistema foram 99,5% e 93,4%, respectivamente (Tabela 2.8). A distribuição dos grupos microbianos no biofilme indica a prevalência de bactérias oxidadoras de amônia na base e bactérias DAMO e anammox, em simbiose, na camada externa. Essa distribuição está relacionada à disponibilidade de substrato e suprimento de oxigênio.

No entanto, ainda não está claro qual seria o efeito nos micro-organismos N-damo quando expostos a concentrações dinâmicas de oxigênio, como as condições de um sistema de

tratamento de águas residuárias (VAN KESSEL *et al.*, 2018). Ademais, dado o crescimento lento destes micro-organismos, a retenção da biomassa é um importante parâmetro para a configuração do reator cujo objetivo seja a remoção simultânea de metano e nitrogênio e pode ser uma opção sustentável para ETEs (WANG *et al.*, 2017).

Segundo Wang *et al.* (2017) alguns desafios ainda são encontrados para adoção da tecnologia em escala real como o uso do metano misturado aos demais gases produzidos na digestão anaeróbia, podendo afetar o desempenho do processo DAMO, o crescimento lento dos micro-organismos prolongando a formação de biofilme e desconhecimento do comportamento destes.

Para remoção de metano com compostos de enxofre ou nitrogênio deve-se considerar fatores como a disponibilidade dos substratos, taxa de crescimento dos micro-organismos, disponibilidade de oxigênio, matéria orgânica, dentre outros.

Além da taxa de crescimento dos micro-organismos, um fator de relevância ao se estudar a interação de ciclos biológicos para remoção simultânea de compostos é a ocorrência preferencial por determinada via metabólica de oxidação. Em exemplo, pode-se citar o trabalho desenvolvido por Pélaz *et al.* (2017) que destacaram que o doador de elétrons preferencial para desnitrificação, após a matéria orgânica, seria o sulfeto e, posteriormente, o metano. Com isso, o controle da taxa de ar aplicada, a configuração do reator e, logo, a transferência de oxigênio são importantes parâmetros para regular as transformações biológicas nos sistemas de tratamento.

As possibilidades de perda do metano com o lançamento do efluente tratado ressaltam a importância em desenvolver novas tecnologias para recuperar ou remover este gás tornando estes processos mais viáveis ambientalmente. Embora a microaeração pareça ser uma técnica útil para remoção de CH₄ dissolvido, que pode contribuir para redução de custos provenientes da aeração convencional, são ainda incipientes os estudos publicados. Deste modo, os processos precisam ser investigados mais detalhadamente, sobretudo quando o CH₄ é usado como doador de elétrons para remoção de outros compostos.

A escassez de estudos envolvendo a remoção de metano de efluente anaeróbio se estende até mesmo à escala laboratorial. Embora se reconheça a grandeza e elaboração das simulações matemáticas como as desenvolvidas por Chen *et al.* (2015), a realidade encontrada nas estações de tratamento de esgotos, e até mesmo nos estudos desenvolvidos em escala piloto, se

distanciam completamente das condições controladas em tais simulações. Assim, trabalhos que apresentam a utilização de esgoto real, e ainda, que tratam o efluente anaeróbio que sabidamente apresenta metano dissolvido se tornam valiosos para fins práticos.

Com relação à microbiota envolvida nos processos de oxidação do metano, a breve revisão de literatura indica que poucos estudos foram conduzidos com micro-organismos que crescem naturalmente no sistema. Quando inoculado, bactérias metanotróficas e, principalmente, os grupos envolvidos na remoção conjunta de compostos nitrogenados configuram em tecnologia promissora para tratamento de efluente anaeróbio. Em alguns casos, a inoculação se faz necessária uma vez que o enriquecimento de determinados grupos é difícil.

Tabela 2.8 – Características principais de estudos abrangendo a remoção biológica de metano associada a compostos de enxofre e/ou nitrogênio

Efluente	Sistema anaeróbio	Sistema para remoção do metano (volume)	TDH (h)	Temperatura (°C)	CH ₄ dissolvido efluente anaeróbio (mg.L ⁻¹)	Perda de CH ₄ em relação à produção total (%)	%CH ₄ dissolvido*	Taxa de remoção (mgCH ₄ .L ⁻¹ .d ⁻¹)	Micro-organismos	Inóculo	Variável operacional	Referência
Sintético	NA	MBfR (0,086 L)	12 / 8 / 4	24	NA	NA	NA	NA	<i>Methylocystaceae</i> e desnitrificantes	Sim	0,2 a 0,3 µg/L OD	Alrashed <i>et al.</i> (2018)
Doméstico com adição de NO ₂ ⁻ e NO ₃ ⁻	AnMBR	Biorreator de filme fixo (26 L)	1,5 - 8	18	NA	NA	70% ⁽¹⁾	NA	-	Sim		Pelaz <i>et al.</i> (2017)
Municipal sintético	UASB (120L)	MBR (56 L)	UASB (10 a 12) MBR (4,6 a 5,6)	17 - 23	29,0	20 - 30	80 - 95%	112,0 a 195,0	Micro-organismos DAMO; metanotróficas e anammox	Sim	Aeróbio (2,8 mg.L ⁻¹ O ₂) e anóxico (0,1 mg.L ⁻¹ O ₂)	Silva-Teira <i>et al.</i> (2017)
Municipal	UASB (155 L)	DHS de dois estágios (80 L)	UASB (8,8) DHS (2)	10 - 28	19,1	46 - 68	>99%		<i>Methylomicrobium</i> , <i>Methylomonas</i> , <i>Methylocystis</i> e <i>Methylocaldum</i>	Não	Taxa de ar (2500 L.m ⁻³ .d ⁻¹)	Matsuura <i>et al.</i> (2015)
Sintético	-	DHS (4 L)	0,5 - 2	20	-	-	95%		Metanotróficas e nitrificantes	Sim	200 a 800 L.m ⁻³ .d ⁻¹	Hatamoto <i>et al.</i> (2010)
Sintético	NA	RBS (1L)	-	30	-	-	-	7,1 a 12,2	ANME, <i>Nitrospira</i> e oxidadoras aeróbias	Sim	10 mL O ₂ puro (<2mg OD.L ⁻¹)	Costa <i>et al.</i> (2019)
Sintético ⁽²⁾	NA	MBfR	96 - 192	25	25,0	NA	93,4%		BOA, anammox e micro-organismos DAMO	⁽²⁾		Chen <i>et al.</i> (2015)

*Porcentagem de metano na fase líquida a partir de todo metano produzido; NA: não se aplica; ⁽¹⁾ corresponde a taxa de participação como doador de elétrons na desnitrificação, se comparado aos demais doadores de elétrons usados (sulfeto e matéria orgânica); ⁽²⁾ Parâmetros usados na simulação do modelo matemático.

2.7.2 Remoção biológica do sulfeto

O sulfeto de hidrogênio produzido pela redução do sulfato é emitido juntamente com o biogás e, sua alta solubilidade, faz com que parte dele permaneça dissolvido no efluente tratado, impactando sobremaneira o sistema de tratamento de esgotos. A concentração total do sulfeto no efluente depende da concentração de sulfato afluente e da atividade das bactérias redutoras de sulfato (BRS) no interior do reator (KHAN *et al.*, 2011). Os problemas inerentes à formação de sulfeto em sistemas anaeróbios de tratamento de esgotos tornam o pós-tratamento crucial para minimizar impactos da emissão deste gás.

A microaeração é uma condição operacional eficaz para remoção de sulfeto de efluente anaeróbio, sendo uma estratégia importante para oxidação parcial a S^0 , elemento que pode ser usado para produção de ácido sulfúrico e processos de biolixiviação (KHAN *et al.*, 2011). Diferente do enxofre cristalino comercial, o enxofre produzido a partir da oxidação biológica do sulfeto possui vantagens como hidrofiliabilidade e atividade biológica, exibindo uma capacidade mais forte de dissolver minérios de sulfeto, além de poder ser usado diretamente como fertilizante (LIN *et al.*, 2018).

Quando o efluente contém grandes quantidades de SO_4^{2-} é necessário realizar a remoção deste composto em dois processos. O primeiro é a redução do SO_4^{2-} a sulfeto pelas BRS. O segundo é a oxidação do sulfeto a S^0 pelas bactérias oxidadoras do enxofre (XU *et al.*, 2012).

Na literatura podem ser encontradas pesquisas desenvolvidas com diferentes configurações de reatores para remoção biológica do sulfeto, por exemplo, biorreator exposto à luz solar (GARCIA *et al.*, 2017), biorreator anaeróbio/microaeróbio (VALDÉS *et al.*, 2016), microaeração em reator de membrana de silicone externa (CAMIOTTI *et al.*, 2016), biorreator de leito fluidizado (MIDHA *et al.*, 2012), microaeração em reator de leito granular expandido (XU *et al.*, 2012), dentre outros.

O efluente de reator UASB foi tratado em reator de biofilme aerado em membrana (RBAM) com microoxigenação (CAMILOTI *et al.*, 2018). O efluente do UASB foi conduzido para a membrana de silicone do RBAM onde o oxigênio puro foi introduzido, e posteriormente, recirculado para o reator UASB. Este foi inoculado com lodo granular obtido de uma planta tratando efluente de cervejaria (escala real), e o efluente tratado foi sintético e suplementado com sulfato. Sequenciamento massivo do RNAr 16S foi realizado para identificar a comunidade

microbiana no reator. A microoxigenação propiciou uma eficiência média de remoção de sulfeto dissolvido igual a 90% (Tabela 2.9). A formação de S^0 foi confirmada pela observação do acúmulo deste no interior da membrana, contudo, não foi quantificado no efluente tratado. Alguns gêneros de micro-organismos envolvidos no ciclo do enxofre foram detectados, a saber, *Sulfuricurvum*, *Geovibrio*, *Flexispira* e *Sulfrospirillum*. Os autores observaram que a introdução do oxigênio favoreceu a oxidação biológica do sulfeto e não afetou a remoção de matéria orgânica e produção de metano.

Garcia *et al.* (2017) utilizaram biorreatores expostos a luz solar para promover a remoção do sulfeto dissolvido e formação de S^0 . Os autores testaram três diferentes TDHs (24, 12 e 6 horas) e verificaram que as melhores eficiências encontradas foram para o TDH de 12 h (cerca de 90%) (Tabela 2.9). No menor TDH testado (6h) houve redução na eficiência de remoção (de 52% a 69%), que foi associada a uma sobrecarga do sistema. Análises de biologia molecular apontaram a presença de bactérias sulfurosas púrpuras (*Chromatiaceae*) e não sulfurosas (*Rhodopseudomonas*, *Rhodobacter*, *Rhodocista* e *Blastochloris*) em ambos os reatores.

A oxidação de sulfeto (S^{2-}) e formação de S^0 ou SO_4^{2-} foi investigada por Sousa *et al.* (2017) em dois diferentes sistemas – reator híbrido (UASB/filtro anaeróbio) e reator UASB microaerado (acima da zona de digestão). O efluente final do reator híbrido apresentou baixa concentração de S^{2-} (3,87% da carga de enxofre total). A oxidação completa a SO_4^{2-} foi prioritária no sistema, com aproximadamente 60% do enxofre efluente representado por este elemento. Entretanto, 30% de toda carga de enxofre afluente foi recuperada como S^0 . A oxidação do sulfeto foi atribuída à presença de bactérias fotoautotróficas e fotoheterotróficas que foram capazes de crescer no filtro em virtude da abertura do topo da unidade, propiciando contato com o ar e a luz. No reator UASB microaerado as concentrações de SO_4^{2-} e S^{2-} efluente foram inferiores, representando 60% e 5% do enxofre afluente, respectivamente. Adicionalmente, nessa condição operacional 46% da carga de enxofre afluente foi recuperada com S^0 (Tabela 2.9). Ambos os sistemas favoreceram a oxidação biológica do sulfeto (e diminuição do odor) e recuperação de S^0 .

A microaeração para oxidação do sulfeto foi testada num sistema integrado entre reator de leito fixo e ordenado com reator de membrana interna (reator anaeróbio/microaeróbio), tratando efluente sintético e inoculado com lodo de UASB (VALDÉS *et al.*, 2016). O esgoto sintético foi preparado com Na_2SO_4 para obter concentração de SO_4^{2-} igual a 150 mg.L^{-1} (sem adição de sulfeto). Variações no fluxo de oxigênio no sistema (de zero até $0,04 \text{ L.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$), estiveram

relacionadas com a concentração de sulfeto dissolvido. Uma taxa de remoção de 96% foi observada, com a concentração de OD variando de 0,05 a 0,1 mg.L⁻¹ (Tabela 2.9). A oxidação completa ou parcial do sulfeto foi inferida a partir da concentração de sulfato efluente, que foi baixa no processo (concentração média 14,3 mg.L⁻¹), sem representação direta da recuperação de S⁰. Sequenciamento massivo indicou a presença de bactérias oxidadoras de sulfeto aderidas à membrana com destaque para os gêneros *Acidithiobacillus*, *Sulfuricurvum* e *Pseudomonas*. Gêneros de bactérias redutoras de sulfato, a exemplo de *Dethiosulfovibrio* e *Desulfovibrio*, foram detectados nas amostras.

Krayzelova *et al.* (2014) avaliaram o efeito da microaeração na remoção de sulfeto de hidrogênio em reator UASB microaerado (UMSB) (do inglês, *microaerobic sludge blanket reactor*) tratando efluente sintético de cervejaria e compararam com um reator UASB não aerado. Com quantidade de ar igual a 1 L.d⁻¹ e potencial de oxidação-redução -420 mV, os autores observaram remoção de sulfeto no biogás (34% no UMSB e 9% no UASB) e no efluente (41% UMSB e 49% UASB) (Tabela 2.9). No reator UMSB 33% do enxofre esteve presente na forma de S⁰, enquanto no reator UASB este valor foi de apenas 6%. A microaeração realizada pelos autores mostrou ser efetiva para remoção do sulfeto e formação de S⁰. A avaliação da influência da atividade metanogênica indicou que a microaeração não causou diminuição da mesma, não afetando a produção de metano no processo. A remoção de DQO também não foi prejudicada.

Um biorreator acrescido com meio suporte de polietileno semi-flexível para crescimento de biofilme foi criado por Liu *et al.* (2013) e utilizado para determinar a eficiência da biotransformação de S²⁻ a S⁰ em diferentes parâmetros operacionais (pH, TDH, temperatura e OD). O afluente foi composto de água de torneira com adição de sulfeto de sódio (Na₂S), com concentrações variadas de sulfeto afluente. As bactérias oxidadoras de sulfeto foram obtidas a partir de lodo municipal. A avaliação do efeito do pH apontou que a atividade bacteriana foi maior quando o mesmo variou de 7,8 a 8,2, com remoção de sulfeto superior a 90% e recuperação de S⁰ (87,6%) (Tabela 2.9). Os testes para avaliar a influência de diferentes concentrações de OD (1,0 mg.L⁻¹ a 7,2 mg.L⁻¹) apontaram que o aumento expressivo na concentração de oxigênio diminuiu a produção de S⁰ e a remoção de S²⁻, quando a concentração afluente de S²⁻ foi constante (aproximadamente 80 mg.L⁻¹). Quando a concentração de OD foi 2,5 mg.L⁻¹ a recuperação de S⁰ foi 87,0% superior em relação a concentração de OD de 7,2 mg.L⁻¹ (65,8% S⁰) e representou o melhor cenário para oxidação parcial do sulfeto (Tabela 2.9).

O tratamento biológico de efluente rico em SO_4^{2-} foi avaliado em dois reatores separados – reator de leito granular expandido (EGSB) e tanque de aeração, a fim de investigar a viabilidade para redução de SO_4^{2-} e oxidação biológica do sulfeto a S^0 (XU *et al.*, 2012). Ao afluente foi adicionado SO_4^{2-} com concentrações variando de 330 a 378 mg.L^{-1} e testadas diferentes taxas de aeração, de modo que OD variasse de 0,02 a 0,35 mg.L^{-1} . Os processos de redução do SO_4^{2-} e oxidação biológica parcial do S^{2-} variaram nas condições de aeração testadas com fluxo contínuo. Do SO_4^{2-} afluente 81,5 a 98,6% foi reduzido a sulfeto, com OD variando de 0,02 a 0,26 mg.L^{-1} . A quantidade de sulfeto oxidado a S^0 dependeu da concentração de oxigênio dissolvido. Quando o OD variou de 0,08 a 0,10 mg.L^{-1} os autores observaram menor concentração de sulfeto no efluente, a taxa de conversão a S^0 atingiu um máximo de 71,8% e a eficiência de remoção de SO_4^{2-} atingiu 81,5% (Tabela 2.9). Valores de OD menores ou maiores reduziram a conversão a S^0 .

Midha *et al.* (2012) estudaram a oxidação biológica de sulfeto de efluente sintético em biorreator de leito fluidizado contínuo, acrescido de uma malha de nylon como meio suporte. O efluente do biorreator foi bombeado para um tanque de aeração, com concentração de OD entre 2,0 a 5,0 mg.L^{-1} e recirculado para seu interior. A oxidação biológica do sulfeto variou de 90% a 92% e a recuperação de S^0 de 65% a 75% nos três TDHs (0,42h, 0,83h e 1,25h) (Tabela 2.9).

A remoção de sulfeto foi avaliada usando cultura pura de *Thiobacillus thioparus* TK-1 em reator *airlift* acrescido de aeração e basalto como meio suporte (MOGHANLOO *et al.*, 2010). As cargas de sulfeto afluente, presente no afluente sintético, foram variadas para avaliar os efeitos na eficiência do sistema. O melhor desempenho foi obtido quando a carga afluente foi 3.600 $\text{gS}^{2-}.\text{m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, com 100% de remoção (Tabela 2.9). Como as concentrações de oxigênio dissolvido no reator foram elevadas, representadas pela taxa de 0,40 $\text{L.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$, o principal produto da oxidação foi o SO_4^{2-} , com concentração efluente variando de 50,0 a 490,0 $\text{mgSO}_4^{2-}.\text{L}^{-1}$, aproximadamente.

A interação entre ciclos do enxofre e nitrogênio requer que um esteja na forma reduzida (doador de elétrons) e o outro na forma oxidada (aceptor de elétrons) (FORESTI *et al.*, 2006). As rotas microbianas descritas no tópico 2.5.4 desta revisão da literatura indicam as possibilidades de remoção simultânea destes compostos e os micro-organismos envolvidos. Estudos envolvendo a oxidação de sulfeto e desnitrificação autotrófica ou heterotrófica, com H_2S como doador de elétrons são encontrados na literatura. A aplicação do potencial microbiano para desnitrificação

autotrófica com bactérias oxidadoras de enxofre é uma opção atrativa para tratamento de águas residuárias com baixa razão DQO/N uma vez que não é necessário adicionar carbono externo, reduzindo os custos do tratamento, e há baixa produção de lodo (LIN *et al.*, 2018).

A microaeração em um biorreator constituído de acrílico para remoção de sulfeto e nitrato foi avaliada por Wang *et al.* (2016) com diferentes concentrações de oxigênio dissolvido ($<0,1$; $0,1 < OD < 0,3$; $0,3 < OD < 0,5$; $0,5 < OD < 0,7$ mg.L⁻¹). Com efluente sintético e inóculo de lodos ativados, o biorreator foi microaerado a partir de sua porção inferior. Quando o OD variou de $>0,1$ a $<0,3$ mg.L⁻¹ foi observada a melhor produção de S⁰ (98,3%), remoção de NO₃⁻ (91,5%), DQO (81,0%) e remoção de sulfeto (97,8%) (Tabela 2.9). Concentrações superiores a 0,3 mg.L⁻¹ OD propiciaram a formação de sulfato e tiosulfato. Técnicas de biologia molecular (PCR-DGGE) apontaram que além do desempenho geral do sistema, o OD influenciou a diversidade, estrutura e composição da comunidade microbiana. Maior abundância de bactérias oxidadoras de sulfeto e redutoras de nitrato foi obtida na fase em que o OD foi limitante ($>0,1$ a $<0,3$ mg.L⁻¹) em conformidade os dados de remoção citados acima. O suprimento limitado de oxigênio pode melhorar a eficiência de conversão a S⁰ e aumentar a eficiência de remoção de sulfeto e nitrato. O estudo indica que a oxidação do sulfeto a S⁰ pode ocorrer na presença de oxigênio, via metabolismo aeróbio de bactérias oxidadoras de enxofre, ou de nitrato, via desnitrificação autotrófica, como aceptores de elétrons.

Xu *et al.* (2017) avaliaram a oxidação do sulfeto e recuperação de S⁰ com desnitrificação em reator de leito granular expandido em condições microaeróbias. Com taxas de fluxo de ar variáveis (0 a 0,01 L.L⁻¹.min⁻¹), efluente sintético acrescido de SO₄²⁻ (1.000,0 mg.L⁻¹) e NO₃⁻ (500,0 mg.L⁻¹) os resultados indicaram desnitrificação total, ausência de amonificação e elevada remoção de SO₄²⁻ (79 a 96%). A razão S⁰/SO₄²⁻ foi maior quando o reator foi microaerado (27 a 69%) em relação a condições anaeróbias (11%).

Com base na revisão de literatura exposta, cabe ressaltar que o aperfeiçoamento da remoção do sulfeto pode ser alcançado via metabolismo dos micro-organismos envolvidos no ciclo do enxofre, por diferentes processos. Garcia *et al.* (2017) mostraram a importância da luz para crescimento de micro-organismos fototróficos na remoção do sulfeto dissolvido, via fotossíntese anoxigênica, de efluente de reator UASB tratando esgoto doméstico. Da mesma forma, Sousa *et al.* (2017) observaram a importância da luz, e do contato com ar (oxigênio), na oxidação do sulfeto mediada por bactérias fotoautotróficas e/ou fotoheterotróficas.

Ademais, a microaeração tem se mostrado uma das variações operacionais mais promissoras de sistemas anaeróbios para remover o sulfeto, com formação predominante do S^0 . Dos trabalhos usando microaeração há uma variedade de metodologias para a introdução do ar ou oxigênio, e valores de taxas de fluxo de ar ou concentração de OD nos sistemas.

Taxa de fluxo de ar de $0,07 \text{ L.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ em reator UASB ($0,46 \text{ mgOD.L}^{-1}$) foi o fator crucial para crescimento de micro-organismos capazes de realizar a oxidação parcial do S^{2-} e recuperação de S^0 (SOUSA *et al.*, 2017). Ao integrar uma membrana para microaeração ($0,05$ a $0,10 \text{ mgOD.L}^{-1}$) em um reator de leito fixo, Váldez *et al.* (2016) observaram o desenvolvimento de bactérias oxidadoras de S^{2-} , com remoção quase total e conversão a S^0 , em vistas a concentração de SO_4^{2-} efluente. Ao testar o aumento progressivo de OD na oxidação parcial do sulfeto, Xu *et al.* (2012) observaram que concentrações limitantes ($0,08$ a $0,10 \text{ mg.L}^{-1}$) foram efetivas na formação de S^0 e para favorecimento concomitante de bactérias redutoras de sulfato e oxidadoras do sulfeto num mesmo reator. Da mesma forma, Liu *et al.* (2013) observaram maior remoção de sulfeto e produção de S^0 na menor concentração de OD testada no estudo ($2,55 \text{ mgOD.L}^{-1}$), contudo, esta concentração é ainda muito superior à maioria dos trabalhos publicados.

Em suma, na oxidação biológica do sulfeto, o S^0 é o principal produto em condições de oxigênio limitantes, enquanto o SO_4^{2-} é formado com excesso de oxigênio. A formação do S^0 é mais desejada que a do SO_4^{2-} , pois o primeiro pode ser recuperado enquanto o sulfato requer um tratamento adicional para eliminação (MIDHA *et al.*, 2012).

Concentrações limitantes de oxigênio podem ainda favorecer a oxidação do sulfeto com desnitrificação autotrófica, uma vez que baixas concentrações de oxigênio podem minimizar os efeitos inibitórios do sulfeto sobre a atividade desnitrificante (CHEN *et al.*, 2010). Huang *et al.* (2015) observaram que bactérias oxidadoras de sulfeto foram responsáveis pela maior conversão do S^{2-} afluente a S^0 usando NO_3^- comoceptor de elétrons na presença de acetato. Wang *et al.* (2015) associaram a microaeração (0 a $0,7 \text{ mgOD.L}^{-1}$) a oxidação do sulfeto via desnitrificação autotrófica. As menores concentrações de OD ($0,1$ a $0,3 \text{ mg.L}^{-1}$) foram propícias para a atividade de bactérias oxidadoras de S^{2-} e redutoras de NO_3^- .

Com base na Tabela 2.9 e revisão da literatura apresentada pode-se observar que diferentes configurações de reatores e sistemas acoplados têm sido propostos para a remoção de sulfeto

dissolvido. Com objetivo de aprimorar os sistemas de tratamento, os aparatos experimentais são por vezes desenhados para remoção de outros compostos como os de nitrogênio e carbono.

A maioria dos estudos emprega efluente sintético e inoculação de cultura pura ou mista, tendo em vista a facilidade do controle das condições do sistema e, além disso, de serem importantes pontos de partida para o entendimento dos processos. Contudo, mesmo os poucos trabalhos que utilizaram efluente real e biomassa crescendo naturalmente nos sistemas demonstraram a eficácia dos mesmos, o que torna mais próximo a aplicação em escala real. O suprimento de ar, a configuração e escala dos biorreatores também são importantes critérios no aprimoramento da oxidação biológica do sulfeto com formação de enxofre elementar, um composto de interesse econômico. Outro fator que pode ser considerado na elaboração do aparato de pós-tratamento para remoção biológica do sulfeto do efluente anaeróbio é a inserção de meio suporte como alternativa para aumentar a superfície de crescimento de micro-organismos e retenção dos mesmos.

Em síntese, persistem ainda gargalos e divergências em relação às melhores condições operacionais para oxidação parcial do H_2S a S^0 em sistemas de baixo custo, empregando esgoto doméstico, submetidos à microaeração e que priorizem o tratamento primordialmente biológico.

Tabela 2.9 – Estudos envolvendo processos biológicos para remoção de sulfeto em diferentes sistemas tratando efluente anaeróbio

Efluente	Sistema empregado / Reator	TDH (h)	Volume (L)	Carga de S ²⁻ -afluente (gS.m ⁻³ .d ⁻¹)	Remoção S ²⁻ (%)	Produção S ⁰ (mg.L ⁻¹) / Recuperação de S ⁰ (%)	Outros compostos de S no efluente (mg.L ⁻¹)	Inóculo	Variável operacional	Referência
Sintético ⁽¹⁾	UASB + RBAM	-	2,2 (UASB) 2,0 (RBAM)	(1)	90	0 / 21 ⁽²⁾	SO ₄ ²⁻ (40,2 - 47,1)	Lodo granular de cervejaria	Microaeração: 0,00037 L.m ⁻³ .d ⁻¹	Camiloti <i>et al.</i> (2018)
Doméstico	Biorreator (sem meio suporte)	24	30,0	3,5	30 - 65	0 / 4 - 33	SO ₄ ²⁻ (4,0 - 7,0) ⁽³⁾	Não	Luz solar	Garcia <i>et al.</i> (2017)
Doméstico	Biorreator (biobob como suporte)	12	30,0	7,0	90	0 / 1 - 28	SO ₄ ²⁻ (8,0 - 14,0) ⁽³⁾	Não	Luz solar	Garcia <i>et al.</i> (2017)
Doméstico	Biorreator (anéis plásticos como suporte)	6	30,0	14,0	52 - 69	0 / 10 - 15	SO ₄ ²⁻ (2,0 - 6,0) ⁽³⁾	Não	Luz solar	Garcia <i>et al.</i> (2017)
Doméstico	UASB + filtro anaeróbio	11,5	27,0 (UASB) 25,0 (filtro)	16,4	40	6,66 / 30	SO ₄ ²⁻ (12,5)	Lodo anaeróbio	Luz solar	Sousa <i>et al.</i> (2017)
Doméstico	UASB microaerado	12	18,0	4,7	78	4,62 / 46	SO ₄ ²⁻ (2,1)	Lodo anaeróbio	Luz solar e microaeração (0,43 L.L ⁻¹ .min ⁻¹)	Sousa <i>et al.</i> (2017)
Sintético	Reator de leito fixo ordenado + reator de membrana interna	21,6	6,2 / 2,0	-	96	-	SO ₄ ²⁻ / S ₂ O ₃ ²⁻ 14,3 / 13,1	Lodo anaeróbio	Microaeração: 0 a 0,04 L.L ⁻¹ .min ⁻¹	Valdés <i>et al.</i> (2016)
Sintético ⁽⁴⁾	UMSB	8	2,7	-	NA	-/33	0	Lodo granular	Microaeração: 0,0002 L.L ⁻¹ .min ⁻¹	Krayzelova <i>et al.</i> (2014)
Água com Na ₂ S	Biorreator com preenchimento em polietileno	1	4,0	NI	>90	- / 87,6	SO ₄ ²⁻ (4,9) ⁽⁵⁾	Lodo municipal	OD: 0,5 a 2,5 mg.L ⁻¹	Liu <i>et al.</i> (2013)

/Continua

Efluente	Sistema empregado / Reator	TDH (h)	Volume (L)	Carga de S ²⁻ afluente (gS.m ⁻³ .d ⁻¹)	Remoção S ²⁻ (%)	Produção S ⁰ (mg.L ⁻¹) / Recuperação de S ⁰ (%)	Outros compostos de S no efluente (mg.L ⁻¹)	Inóculo	Variável operacional	Referência
Água com Na ₂ S	Biorreator com preenchimento em polietileno	1	4,0	NI	>90	- / 65,8	SO ₄ ²⁻ (26,7) ⁽⁶⁾	Lodo municipal	OD: 7,2 mg.L ⁻¹	Liu <i>et al.</i> (2013)
Sintético	EGSB + unidade de aeração (UA)	18	4,0 (EGSB) 5 (UA)	0	NA	19,2 - 71,8	SO ₄ ²⁻ (5,3 - 176,0)	Inóculo de EGSB	OD: 0,02 a 0,35 mg.L ⁻¹	Xu <i>et al.</i> (2012)
Sintético com adição de sulfeto	Biorreator de leito fluidizado contínuo	0,42 0,83 1,25	0,25	5.600 2.800 1.600	90 - 92	65 - 75	SO ₄ ²⁻ (5,0 - 10,0)	Cultura mista de lodo ativado	OD: 2,0 a 5,0 mg.L ⁻¹	Midha <i>et al.</i> (2012)
Sintético rico em S ²⁻	<i>Airlift</i>	3,3	4,2	3.600	100	NI	SO ₄ ²⁻ (50,0 a 490,0)	Cultura pura de TK-1	0,40 L.L ⁻¹ .min ⁻¹	Moghanloo <i>et al.</i> (2010)
Sintético	Biorreator de acrílico microaerado	8,8	3,7	8.720	97,8	- / 98,3	-	Lodo ativado	OD: <0,1 a <0,7 mg.L ⁻¹	Wang <i>et al.</i> (2016)
Sintético com SO ₄ ²⁻	EGSB + tanque de aeração (TA)	18	4,0 (EGSB) 2 (TA)		NA	69	NI	Inóculo de EGSB	0 a 0,01 L.L ⁻¹ .min ⁻¹ (OD: 0,02 a 0,35 mg.L ⁻¹)	Xu <i>et al.</i> (2017)

⁽¹⁾efluente sintético introduzido com carga de sulfato afluente variando de 94 a 165 gS.L⁻¹.d⁻¹; ⁽²⁾S⁰ presente na biomassa em uma das fases do estudo; ⁽³⁾dados referentes à produção total de SO₄²⁻ em %; ⁽⁴⁾efluente sintético com carga de sulfato afluente igual a 0,084 gS L⁻¹.d⁻¹. ⁽⁵⁾dados referentes a variação de pH de 7,8 a 8,2 com OD igual a 2,5 mg.L⁻¹, 4,95% SO₄²⁻ produzido; ⁽⁶⁾26,72% SO₄²⁻ produzido; NI: não informado; NA: não se aplica.

2.7.3 Remoção biológica de compostos nitrogenados

Considerando os problemas associados aos nutrientes no ambiente aquático, a remoção de compostos nitrogenados presentes no efluente anaeróbio se faz necessária. Uma variedade de processos físico químicos e biológicos podem ser aplicados para este fim. Como os processos biológicos são efetivos e relativamente mais baratos têm sido amplamente adotados (AHN *et al.*, 2006).

A remoção biológica de nitrogênio em estações de tratamento de esgotos (ETEs) pode ser convencionalmente alcançada em dois processos separados - nitrificação autotrófica seguida de desnitrificação heterotrófica (MORAES *et al.*, 2013). A primeira etapa requer a presença do oxigênio e a segunda ocorre em condições anóxicas quando o nitrato é convertido a gás nitrogênio (N₂) (CARDOSO *et al.*, 2006). Muita energia é requerida na aeração, essencial para a nitrificação, enquanto que matéria orgânica é necessária para desnitrificação heterotrófica (MA *et al.*, 2015). A ausência de doadores de elétrons para desnitrificação heterotrófica, consequência do seu rápido consumo no tanque de aeração pelas bactérias (SANTOS *et al.*, 2018), eleva os custos do tratamento. Dessa forma, alternativas mais viáveis de pós-tratamento de efluente anaeróbio têm sido estudadas, como a redução da quantidade de ar introduzido (microaeração) ou a descontinuidade da aplicação (aeração intermitente). Além da viabilidade econômica, o modo de aeração pode priorizar determinados grupos microbianos como exposto neste revisão.

A remoção de nitrogênio foi avaliada em reator UASB microaeróbio de escala laboratorial com biomassa enriquecida de lodo ativado e efluente sintético (ZHENG *et al.*, 2012). Remoção de nitrogênio amoniacal superior a 90% foi obtida quando a concentração de oxigênio dissolvido variou de 0,7 a 0,9 mgOD.L⁻¹. O sistema proporcionou simultânea remoção de DQO e nitrificação, e reduziu o suprimento de ar em 60% em relação ao método convencional.

Augusto *et al.* (2018) avaliaram a remoção de amônia em reator de biofilme aerado por membrana empregando nitrificação parcial e anammox com inóculo de lodo ativado. O esgoto sintético apresentou cargas de nitrogênio iguais a 50 gN.m⁻³.d⁻¹ e 100 gN.m⁻³.d⁻¹ e oxigênio dissolvido introduzido nas concentrações 0,42 mgOD.L⁻¹ e 0,53 mg.L⁻¹, respectivamente, representando taxas de ar de 0,37, 0,74 e 1,10 L.L⁻¹.min⁻¹. Foi observada uma eficiência de remoção de amônia de até 84%. No entanto, quando os níveis de oxigênio foram mais elevados

a eficiência reduziu para 69% devido a um desbalanço na comunidade microbiana e, conseqüentemente, diminuição na eficiência do reator.

Keene *et al.* (2017) avaliaram os efeitos na nitrificação com a diminuição da aeração em um reator piloto de alimentação contínua. Os autores observaram que é possível obter uma nitrificação eficiente com a média de OD de 0,33 mg.L⁻¹. Em baixas concentrações de OD a amônia foi completamente oxidada e a eficiência de remoção de nitrogênio total foi de 96%. Sequenciamento do RNA ribossomal 16S indicaram que a comunidade microbiana se adaptou às baixas concentrações de OD e predomínio de *Nitrosomonas* entre as bactérias oxidadoras de amônia.

Os micro-organismos responsáveis pela oxidação da amônia em reator com baixas concentrações de OD foram investigados por Fitzgerald *et al.* (2015). Foram empregados dois reatores, ambos alimentados com lodo proveniente de ETE. No entanto, uma das ETE era operada para alcançar nitrificação/desnitrificação e o lodo adaptado a baixas concentrações de OD, e a outra ETE não era operada para remoção de nitrogênio. Os reatores foram alimentados com efluente sintético com concentração de nitrogênio amoniacal igual a 30,0 mg.L⁻¹ e o oxigênio foi mantido abaixo de 0,30 mg.L⁻¹. Em ambos os reatores foi observada nitrificação completa em baixas concentrações de OD (0,20 a 0,24 mg.L⁻¹), embora um atraso no reator com lodo não adaptado tenha sido observado.

A simultânea nitrificação e desnitrificação ocorre quando ambas as reações acontecem em uma única unidade operacional. O processo de remoção simultânea apresenta vantagens em relação a remoção convencional como menos unidades de tratamento, redução dos custos operacionais e menor demanda por oxigênio e alcalinidade (SILVA *et al.*, 2018).

O processo anammox é uma alternativa viável para a remoção autotrófica do nitrogênio. Uma das vantagens deste processo é que dispensa a adição de carbono orgânico, permitindo que a matéria orgânica do efluente possa ser anaerobicamente convertida em biogás (CH₄), contribuindo para máxima recuperação da energia do esgoto. Adicionalmente, o consumo de energia é reduzido, uma vez que a demanda de oxigênio é reduzida em 60% (MA *et al.*, 2015).

A remoção autotrófica do nitrogênio através da nitrificação parcial/anammox é um processo de um estágio e pode ser usada para remoção de águas residuárias ricas em amônia. Na nitrificação parcial/anammox as nitrificantes ficam localizadas na camada externa do biofilme enquanto as

anammox crescem na camada interna. Assim as nitrificantes podem acessar o substrato disponível com maior facilidade que as anammox. A retenção de micro-organismos em meio suporte pode acarretar em melhorias no sistema de tratamento uma vez que o tempo de duplicação das bactérias anammox é elevado.

De acordo com as rotas metabólicas dos micro-organismos envolvidos no ciclo do nitrogênio, controlar o crescimento das bactérias oxidadoras de nitrito é fundamental para permitir a remoção autotrófica do nitrogênio via anammox em sistemas de tratamento de esgotos. O controle da aeração do sistema tem se mostrado uma das alternativas mais vantajosas para controlar tais processos, seja através da limitação do oxigênio disponível (microaeração) ou com aeração intermitente (AI). O suprimento de oxigênio para a produção de NO_2^- deve ser rigidamente regulado para evitar a inibição do oxigênio, a superprodução de NO_2^- ou a nitrificação completa em nitrato e o crescimento de heterótrofos (VAN KESSEL *et al.*, 2018).

Ma *et al.* (2015) avaliaram aeração intermitente com baixa concentração de OD para suprimir bactérias oxidadoras de nitrito (BON) em reator de nitrificação/anammox de um estágio para remoção de nitrogênio. Os autores observaram mudança na comunidade microbiana após aeração intermitente com supressão de BON. Quando a remoção de nitrogênio total (NT) foi estável e alcançou aproximadamente 85%, análises dos grânulos apontaram predomínio de anammox com poucas bactérias oxidadoras de amônia (BOA). Com 15min *on* e 5min *off* a remoção de NT alcançou 88%, com baixas concentrações de NO_2^- e NT efluentes, temperatura 21,6°C. O aumento da temperatura, com aquecimento do sistema, foi fundamental para aumentar atividade anammox e possibilitou a diminuição do período anóxico de 90min *on* para 15min *off*.

Yang *et al.* (2015) investigaram a nitrificação parcial/anammox em reator de biofilme e leito móvel e observaram eficiência de remoção de 84 e 88% em aeração contínua e aeração intermitente (45min *on*/15min *off*), com OD de 3,0 e 3,5 mg.L^{-1} , respectivamente. O baixo suprimento de oxigênio, quando o ciclo foi 30min *on*/30min *off* culminou com menor remoção de nitrogênio (40%). Análises da comunidade microbiana indicaram predomínio de bactérias oxidadoras de amônia e anammox no biofilme e menor quantidade de oxidadoras de nitrito e heterotróficas. Os autores observaram que a aeração intermitente requer menor suprimento de ar sem acarretar perda na eficiência do processo.

Miao *et al.* (2018) avaliaram os efeitos da razão C/N na remoção de nitrogênio em reator em batelada seqüencial com período anóxico superior ao aeróbio (8min *on*/21min *off*) e oxigênio dissolvido variando de 1,5 a 3,0 mgOD.L⁻¹. O aumento da razão C/N de 1,1 a 2,0 levou a uma melhora na remoção de nitrogênio amoniacal e total. Este aumento de C/N acarretou uma diminuição na atividade das bactérias oxidadoras de nitrito, mas não na abundância das mesmas (confirmado pelo qPCR), que pode ter sido ocasionada pela maior retenção celular. A AI pode ter sido o fator crucial para inibição da atividade das BON.

Variações nos métodos de fornecimento de ar (microaeração ou aeração intermitente) podem resultar em eficiências elevadas de remoção de amônia e reduzir os custos do processo, além de produzir um efluente final de acordo com os padrões ambientais e proporcionar menor geração de impactos aos corpos d'água receptores, no que se refere ao despejo de nutrientes.

2.7.4 Considerações sobre a remoção simultânea dos elementos estudados

A possibilidade de interação entre os ciclos dos elementos (carbono, enxofre e nitrogênio) permite que, quando presentes em águas residuárias, os contaminantes possam ser removidos simultaneamente.

A interação dos ciclos do nitrogênio, enxofre e carbono foi proposta através de um modelo matemático desenvolvido por CHEN *et al.* (2016). Os autores propuseram que a remoção simultânea de amônia, metano e sulfeto dissolvidos em reator de biofilme de membrana pode ser superior a 90% com o suprimento de oxigênio, através da atividade de micro-organismos oxidadores de amônia, bactérias anammox, arqueias anaeróbias oxidadores de amônia, bactérias aeróbias oxidadoras de amônia e bactérias oxidadoras de enxofre. Os autores destacaram que a comunidade microbiana se distribui no biofilme de acordo com a concentração de substrato e oxigênio nas camadas.

O pós-tratamento de efluente anaeróbio em reator DHS para oxidação do metano e compreensão da competição pelo oxigênio pelas bactérias oxidadoras de metano, amônia, matéria orgânica e sulfeto foi avaliada por Hatamoto *et al.* (2011). Quando o suprimento de ar foi abundante a eficiência de remoção de sulfeto, metano, amônia e matéria orgânica foi superior a 90%. A medida que o oxigênio foi se tornando limitante, a oxidação da amônia foi a primeira a cessar, seguida pela remoção do metano e por fim do sulfeto. A maior sensibilidade da oxidação da amônia foi atribuída a menor afinidade ao oxigênio pelas bactérias oxidadoras

de amônia e menor energia livre quando comparada a da oxidação do acetato, propionato, metano e sulfeto (HATAMOTO *et al.*, 2011).

O uso de processos convencionais de nitrificação e desnitrificação sem a adição de doadores de elétrons para a remoção de nitrogênio é um desafio quando o reator anaeróbico é a primeira unidade no tratamento de esgoto doméstico (FORESTI *et al.*, 2006). Isto ocorre porque a quantidade de matéria orgânica no efluente do reator anaeróbico é normalmente inferior do que a necessária para a desnitrificação. De modo a contornar tal infórtunio, podem ser usados como doadores de elétrons – ácidos graxos voláteis, metano e compostos reduzidos de enxofre (Figura 2.9). Uma das vantagens deste processo é que os subprodutos do tratamento anaeróbico podem ser usados como doadores de elétrons no pós-tratamento, reduzindo os custos. O uso do sulfeto e metano como doadores de elétrons minimiza os efeitos negativos no sistema de tratamento e no meio ambiente, uma vez que as emissões destes gases para a atmosfera são reduzidas.

A Figura 2.9 apresenta um esquema dos possíveis doadores de elétrons para remoção de compostos nitrogenados, ilustrando a interação entre os diferentes ciclos de nutrientes.

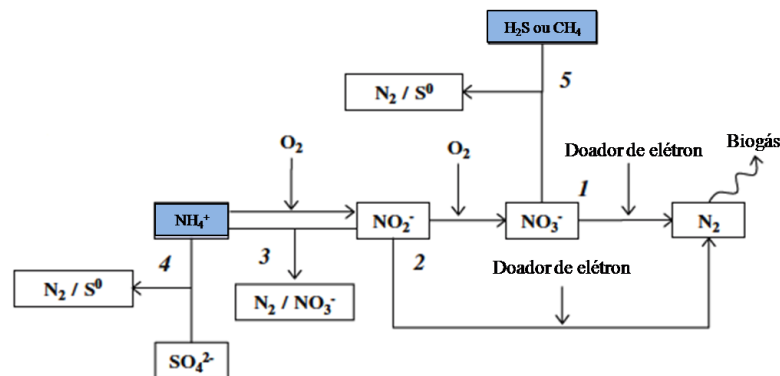


Figura 2.9 – Possíveis vias para remoção/recuperação de nitrogênio de esgoto tratado anaerobicamente

Nota: Compostos apresentados em caixas azuis estão presentes em efluentes de reatores anaeróbicos. (1) Nitrificação convencional + desnitrificação para remoção de N; (2) Nitrificação parcial + desnitrificação; (3) Desnitrificação quimiolitotrófica de nitrito com amônia como doador de elétron (Anammox); (4) Redução do sulfato via oxidação da amônia; (5) Desnitrificação quimiolitotrófica com sulfeto ou metano.

Fonte: Foresti *et al.* (2006)

Na desnitrificação autotrófica ocorre a remoção simultânea de sulfeto e compostos nitrogenados e consiste na oxidação do sulfeto (ou outros compostos reduzidos de enxofre como S^0 e $S_2O_3^{2-}$) e redução de NO_2^- ou NO_3^- produzindo sulfato. A composição dos produtos finais e a taxa de

remoção de ambos os íons depende da razão molar N/S, razão de sulfeto e nitrato e concentração inicial de sulfeto (POKORNA & ZABRANSKA, 2015). Adicionalmente, importantes fatores operacionais são considerados para a ocorrência deste processo como temperatura mesofílica, concentração de oxigênio e compostos inibitórios (nitrato, nitrito e sulfeto) (GUERRERO *et al.*, 2015).

Xu *et al.* (2017) investigaram a estrutura da comunidade microbiana e bactérias dominantes estimuladas por condições microaerófilas em reator de leito granular expandido (EGSB) em escala laboratorial, para co-redução de sulfato e nitrato, tratando efluente sintético com inoculação de lodo de ETE. A aeração foi realizada em compartimento separado e as taxas de ar variaram de 0,001 a 0,039 L.L⁻¹.h⁻¹ (OD de 0,07 a 0,35 mg.L⁻¹), além de etapas com condições anaeróbias. Os autores observaram completa desnitrificação e eficiente remoção de sulfato (até 96%), com influência direta da taxa de oxigênio aplicada, ou seja, nas maiores concentrações de OD houve uma redução na eficiência de remoção do SO₄²⁻, quando comparado com condições microaeróbias e anaeróbias. Condições microaeróbias proporcionaram maior formação de S⁰, com produção máxima (69%) alcançada com concentração de OD de 0,10 a 0,14 mg.L⁻¹, quando comparado com estágios anaeróbios (11%). A remoção de matéria orgânica também foi melhorada, de 52% para 90%, ao mudar as condições de anaeróbia para microaeróbia. O sequenciamento massivo (Illumina) apontou o domínio de grupos como *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Spirochaetae* e *Synergistetes* quando o oxigênio esteve em quantidades limitadas.

Simultânea nitrificação/desnitrificação com oxidação do sulfeto em um único reator para pós-tratamento de efluente anaeróbio foi avaliada em reator de leito estruturado (SANTOS *et al.*, 2018) e reator de biofilme em batelada sequencial (MORAES *et al.*, 2013), ambos com aeração intermitente.

A simultânea nitrificação e desnitrificação acoplada a oxidação do sulfeto em um único reator tratando efluente de reator UASB alimentado com efluente sintético não foi eficiente nas condições testadas por Moraes *et al.* (2013), necessitando desta forma, de uma etapa adicional de tratamento. Os ciclos de aeração foram de 116min aerados e 116min anóxico e concentração de sulfeto variando de 0,0 a 55,0 mg.L⁻¹. A taxa de ar aplicada foi de 0,04 L.L⁻¹.min⁻¹ e o OD variou de acordo com a concentração de sulfeto aplicada. Segundo os autores, a ocorrência de ambos os processos em um único reator requer controle operacional rigoroso com relação a

concentração de sulfeto, que mesmo em baixa concentração (11,6 mgSDT.L⁻¹) causou redução da eficiência de nitrificação de 97 para 77% (MORAES *et al.*, 2013). Neste estudo foi avaliado o pós-tratamento do efluente de reator UASB tratando efluente sintético similar ao esgoto doméstico e inoculação.

A dinâmica e impacto do sulfeto em processo combinado de nitrificação e desnitrificação autotrófica em reator de leito estruturado com recirculação e aeração intermitente (60min *on* e 120min *off*) foi avaliada por Santos *et al.* (2018). O sistema foi operado com efluente sintético e inoculação (lodo de reator UASB de matadouro de aves). Uma inibição parcial da nitrificação (eficiência de oxidação da amônia igual a 54 e 59%) foi observada devido à toxicidade causada pelo sulfeto (220,0 mgSDT.L⁻¹).

Lu *et al.* (2018) observaram que altas concentrações de sulfeto (acima de 200,0 mgSDT.L⁻¹) podem causar efeitos inibitórios na desnitrificação autotrófica e oxidação do sulfeto em condições anóxicas. Segundo os autores, isto pode ser explicado pelo fato do sulfeto se ligar a cofatores metálicos da enzima nitrato redutase causando inibição temporária da atividade desnitrificante.

Chen *et al.* (2010) avaliaram os efeitos da inibição do sulfeto sob condições anaeróbias e microaeróbias (concentração de oxigênio dissolvido de 0,4 a 0,8 mg.L⁻¹) em desnitrificantes heterotróficas e autotróficas. Na ausência de oxigênio, 200,0 mg.L⁻¹ de sulfeto causou inibição parcial do consórcio H7 (*Penibacillus* sp. e *Aneurinibacillus aneurinilyticus*) levando a diminuição da remoção de sulfeto e nitrato; quando a concentração de sulfeto foi 280,0 mg.L⁻¹ a remoção destes compostos foi praticamente zero. Na microaeração, mesmo com aumento crescente da concentração de sulfeto até 280 mg.L⁻¹, não foi observada inibição total das bactérias, sendo observado consumo de nitrato, acetato e sulfeto. Importante salientar que embora as condições microaeróbias tenham melhorado o desempenho do reator (reator de leito granular expandido em escala bancada) as concentrações de sulfeto testadas são muito superiores às reportadas em sistemas de tratamento de esgotos sanitários, não sendo aplicado a estudos que envolvam a remoção de efluente real.

Segundo Chen *et al.* (2010) o oxigênio introduzido em quantidades limitadas reduziu os efeitos inibitórios do sulfeto sobre a atividade desnitrificante e melhorou o desempenho dos grânulos.

A habilidade de metanotróficas em utilizar aceptores de elétrons alternativos, além do oxigênio quando este está em concentrações limitantes, aumenta sua sobrevivência, e diminui a dependência por este gás. Quando o nitrato é usado como aceptor de elétrons, a quantidade de oxigênio necessária para oxidação do metano reduz pela metade (KITS *et al.*, 2015). Contudo, poucos estudos foram encontrados utilizando a microaeração para remoção de metano e compostos nitrogenados de efluente anaeróbio. Isto pode ser devido às dificuldades no cultivo e longo período de duplicação das bactérias DAMO e arqueias ANME, o que implicaria ainda em maiores problemas em estudos em escala real.

A interação microbiana que pode ser alcançada através dos ciclos dos nutrientes – carbono, enxofre e nitrogênio, representa uma possibilidade para pós-tratamento de efluente anaeróbio. Isto porque conforme descrito na presente revisão de literatura, compostos nitrogenados (em especial amônia), de enxofre (sulfato e sulfeto) e de carbono (matéria orgânica e metano) são comumente detectados nesses efluentes e há possibilidade de sinergia entre os micro-organismos.

De modo geral, pode-se dizer que quase todos os estudos encontrados na literatura usam efluente sintético e inoculação, de cultura pura ou mista, em configurações diversas de reatores. Com relação a inoculação, sua necessidade é justificada pelo fato de alguns grupos serem de difícil cultivo ou apresentarem crescimento lento. Ainda são escassos os trabalhos avaliando a interação dos três ciclos, sendo mais comum os estudos com uso de sulfeto ou metano como doadores de elétrons para remoção de compostos nitrogenados e com variações nas formas de aeração.

Permanece ainda como lacuna a ser preenchida a avaliação da remoção de compostos de carbono, sulfurosos e nitrogenados tratando esgoto doméstico real, com metano, sulfeto e amônia em concentrações típicas do esgoto, de modo a aproximar das realidades encontradas nas ETEs e reduzir os custos do tratamento. Em consenso, a microaeração contínua ou aeração intermitente se mostraram efetivas quando aplicadas a cada um dos ciclos ou para a interação entre eles. Assim, essas condições operacionais podem ser ferramentas úteis no pós-tratamento de efluente anaeróbio, objetivando minimizar impactos no lançamento do efluente.

3 SÍNTESE DA REVISÃO DE LITERATURA

Embora o tratamento anaeróbio de esgoto doméstico em reatores UASB seja uma tecnologia bem consolidada e de ampla aplicação em países em desenvolvimento como o Brasil, a presença de gases dissolvidos (sulfeto e metano) e nitrogênio amoniacal no efluente tratado torna necessária a etapa de pós-tratamento. A adoção do sistema acoplado (UASB seguido de unidade de pós-tratamento) representa, dessa forma, uma garantia da qualidade do efluente final, minimizando possíveis danos causados pelo lançamento do efluente tratado no ambiente e atendimento aos padrões de lançamento.

O favorecimento de rotas biológicas contribui para a remoção de compostos remanescentes do efluente anaeróbio. Estratégias operacionais como introdução de ar (de modo contínuo ou intermitente) e presença de luz podem ser adotadas para aprimorar a eficiência do sistema, isto porque podem favorecer o crescimento de determinados grupos de micro-organismos. Adicionalmente, estas estratégias podem proporcionar uma redução dos custos, uma vez que a aeração convencional é uma das atividades que mais onera os sistemas de tratamento (KNEE *et al.*, 2017) e a luz permite o crescimento de micro-organismos fotossintéticos, que são capazes de remover e recuperar compostos simultaneamente (LU *et al.*, 2019).

Contudo, os dados da literatura muitas vezes não convergem para informar quais os melhores parâmetros para alcançar maior eficiência global do sistema. Variações encontradas na literatura se referem à quantidade de ar dosada, assim como da aplicação de ciclos com e sem ar (aeração intermitente), a melhor configuração do reator, dentre outras. A introdução de ar pode remover gases dissolvidos por *stripping*, devendo ser aplicada com cautela, uma vez que o lançamento destes na atmosfera pode causar efeitos negativos. Vale ressaltar que o controle entre a remoção biológica e/ou física (para o caso dos gases) é um desafio no pós-tratamento. De modo geral, a decisão por um método de pós-tratamento para o efluente do reator UASB é uma tarefa desafiadora, no que se refere ao sistema mais adequado, confiável, eficiente, de fácil operação e manutenção e economicamente e tecnicamente viável conforme ressaltado por Chernicharo (2006).

A grande diversidade de grupos microbianos envolvidos nas rotas de oxidação do metano, sulfeto e/ou nitrogênio, reiteram a possibilidade de remoção destes contaminantes por via biológica do efluente anaeróbio sob diferentes estratégias de aeração e incidência ou não de luz. A diversidade de estudos apresentados nesta revisão para a remoção destes compostos e as

estratégias operacionais com todas as suas variáveis, ressalta a importância em buscar métodos que sejam mais viáveis economicamente, de acordo com a realidade local, de modo que os impactos causados pelo lançamento do efluente tratado sejam menores. Isto porque a remoção concomitante dos três compostos (metano, sulfeto e nitrogênio amoniacal) é difícil de ser alcançada, sobretudo, quando o efluente é real e que apresentam assim variações na composição. Além disso, lacunas e dificuldades podem ser encontradas a exemplo: remoção de metano de efluente doméstico real, recuperação de enxofre elementar, ampliação para escala plena, utilização de esgoto doméstico real, ausência de inoculação, dentre outras. No entanto, os problemas associados a estes compostos no ambiente e as restrições nos padrões ambientais (ou futuras possibilidades) incentivam pesquisas voltadas para a remoção.

A remoção de compostos remanescentes, em especial sulfeto dissolvido, de esgoto doméstico tem sido estudada pelo nosso grupo de pesquisa desde 2010. Para tanto foram construídos dois biorreatores em acrílico transparente (para penetração da luz solar), operados em modo contínuo e fluxo ascendente, para pós-tratamento do efluente de reator UASB. Primeiramente os biorreatores foram operados em tempos de detenção hidráulica (TDHs) iguais a 24h, 12h e 6h, ausência e presença de meio suporte (anéis de polipropileno e espuma de poliuretano) e ausência de oxigênio (GARCIA *et al.*, 2017). A maior eficiência de remoção de sulfeto foi observada no TDH foi 12h (mediana de 90%) para os reatores com meio suporte. Em todas as condições testadas foi observada formação de SO_4^{2-} . O S^0 foi biologicamente formado a partir da oxidação do sulfeto, com algumas variações entre meios suportes e fases.

A pesquisa supracitada foi eficiente na remoção de S^{2-} e formação de S^0 , no entanto, lacunas em relação a eficiência do sistema para a remoção de matéria orgânica e sólidos e mais conhecimento sobre as possíveis transformações de compostos nitrogenados permaneceram. Dessa forma, Azevedo *et al.* (2018) em trabalho complementar, avaliaram a remoção de sulfeto, matéria orgânica (DQO), compostos nitrogenados e de sólidos no pós-tratamento em menores TDHs (6h, 4h e 2h). O sistema de pós-tratamento foi eficiente na remoção de DQO efluente do reator UASB; o meio suporte favoreceu maior retenção de sólidos suspensos no biorreator e remoção de sulfeto (igual a 92% no TDH 6h). As concentrações de compostos nitrogenados observadas no afluente e efluente dos biorreatores apontaram que não ocorreu nitrificação uma vez que o sistema foi operado em condições anaeróbias.

Análises de biologia molecular das pesquisas supramencionadas apontaram a presença de uma ampla gama de micro-organismos como bactérias púrpuras não sulfurosas e fototróficas, bactérias fototróficas púrpuras, verdes sulfurosas, grupos relacionados a desnitrificação e metanotróficas obrigatórias. A diversidade microbiana nos biorreatores, a partir de crescimento natural (sem inoculação), incitou o desenvolvimento de pesquisas adicionais para avaliação de remoção de metano dissolvido, favorecimento da oxidação parcial do sulfeto e remoção de nitrogênio amoniacal.

Com base na revisão de literatura e no histórico das pesquisas desenvolvidas pelo nosso grupo, usando biorreatores expostos à luz solar para o pós-tratamento de efluente anaeróbio, o presente trabalho foi proposto para remoção concomitante de metano, sulfeto e nitrogênio amoniacal de efluente de reator UASB. Os resultados obtidos nos estudos anteriores do grupo, para o mesmo sistema de pós-tratamento suscitaram a necessidade de pesquisas adicionais. A remoção simultânea destes compostos em efluente anaeróbio por vias biológicas tratando esgoto doméstico real ainda não foi investigada.

4 PREMISSAS E HIPÓTESES DE INVESTIGAÇÃO

Diante da revisão de literatura e do histórico dos trabalhos realizados pelo nosso grupo de pesquisa, as seguintes premissas e hipóteses foram levantadas:

Premissas	Hipóteses	Objetivos Específicos
Metano, sulfeto e nitrogênio amoniacal estão presentes em efluente anaeróbio. Reatores preenchidos com meio suporte para pós-tratamento deste efluente permitem maior retenção dos micro-organismos com diferentes características e a estratificação no biofilme permite metabolismo anaeróbio e aeróbio (CHEN <i>et al.</i> , 2016). A microaeração pode favorecer o metabolismo de metanotróficas aeróbias (KITS <i>et al.</i> , 2015), oxidadoras de amônia (KEENE <i>et al.</i> , 2017) e de sulfeto (KRAYZELOVA <i>et al.</i> , 2014). Bactérias fotossintéticas podem ser usadas para alcançar elevada eficiência de remoção de sulfeto e amônia de efluentes (YANG <i>et al.</i> , 2018).	Biorreatores preenchidos com meio suporte, submetidos à microaeração contínua e luz solar promovem a remoção simultânea de metano, sulfeto e nitrogênio amoniacal.	Essa hipótese fundamenta o objetivo específico 1.

<p>A microaeração tem se mostrado uma técnica importante para estimular o metabolismo de diversos grupos microbianos envolvidos na oxidação do sulfeto. Os baixos níveis de oxigênio permitem a oxidação do sulfeto a enxofre elementar (S^0) pela via aeróbia, e a luz permite a oxidação via fotossíntese anoxigênica. Ambos os processos ocorrendo no mesmo reator aumentam a eficiência de remoção de sulfeto e, conseqüentemente, maior formação de S^0, que pode ser recuperado da fase líquida.</p>	<p>A microaeração e luz favorecem a oxidação parcial do sulfeto a enxofre elementar em detrimento da oxidação completa, com formação de sulfato.</p>	<p>Essa hipótese fundamenta o objetivo específico 1.</p>
<p>A aeração intermitente (AI) é um método eficaz para promover nitrificação parcial ou total, e assim contribuir para remoção de nitrogênio amoniacal em efluente anaeróbio. A alternância entre períodos aeróbios e anóxicos previnem a inibição das bactérias anammox pelo oxigênio e permitem alcançar equilíbrio microbiano (QIU <i>et al.</i>, 2019). Longos períodos anóxicos podem inibir a atividade das bactérias oxidadoras de nitrito e enriquecer anammox (MIAO <i>et al.</i>, 2018). A inoculação (lodo ativado, lodo anaeróbio e anammox) juntamente com a AI pode propiciar o crescimento de micro-organismos envolvidos na oxidação do metano, sulfeto e amônia presentes no efluente anaeróbio.</p>	<p>A aeração intermitente resulta em melhores eficiências de remoção de compostos nitrogenados e/ou sulfeto e metano no pós-tratamento do efluente de reator UASB.</p>	<p>Essa hipótese fundamenta o objetivo específico 2.</p>
<p>O perfil da comunidade microbiana nos sistemas para tratamento de esgotos varia de acordo com a disponibilidade de substrato (presença de metano, sulfeto e/ou nitrogênio amoniacal) e das condições operacionais adotadas (microaeração contínua, AI e incidência ou não da luz).</p>	<p>A adoção de variáveis operacionais que favoreçam o metabolismo dos grupos microbianos envolvidos na remoção de metano, sulfeto e amônia, aumenta a diversidade destes grupos e a remoção destes compostos no pós-tratamento.</p>	<p>Essa hipótese fundamenta o objetivo específico 3.</p>

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo geral

Avaliar os mecanismos de conversão biológica na remoção simultânea de metano, sulfeto e nitrogênio amoniacal, bem como o comportamento de biorreatores, no pós-tratamento de efluente de reator UASB tratando esgoto doméstico.

5.2 Objetivos específicos

1. Avaliar a influência da microaeração contínua na remoção biológica de metano, sulfeto e nitrogênio amoniacal, bem como a eficiência de formação de S^0 , em biorreatores expostos à luz solar, em distintos tempos de detenção hidráulica.
2. Avaliar os efeitos de diferentes estratégias de aeração intermitente, ausência de luz e inoculação na remoção de nitrogênio amoniacal, bem como metano e sulfeto dissolvidos.
3. Investigar a diversidade da comunidade microbiana nos biorreatores durante as fases de estudo para compreensão dos processos biológicos de remoção de metano, sulfeto e nitrogênio amoniacal.

6 MATERIAL E MÉTODOS

6.1 Descrição geral das etapas da pesquisa e delineamento experimental

A presente pesquisa foi dividida em duas etapas, de acordo com as estratégias operacionais para remoção de metano, sulfeto e nitrogênio amoniacal do efluente de reator UASB. Na Etapa 1 foram avaliados os efeitos da microaeração contínua, presença de luz solar e ausência de inoculação; e a Etapa 2 a aeração intermitente (AI), ausência de luz e inoculação. Cada etapa foi dividida em fases - de acordo com os tempos de detenção hidráulica (TDHs) (Etapa 1) e diferentes ciclos aeróbios/anóxicos (Etapa 2) (Figura 6.1). Na Figura 6.1 estão evidenciadas as características gerais de cada etapa e fases e os objetivos específicos relacionados. Parte das atividades foi realizada em campo (CePTS), e relaciona-se a operação dos reatores, e a outra parte nos Laboratórios de Microbiologia, Físico-Química e de Análises Instrumentais do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (DESA) da Escola de Engenharia da UFMG.

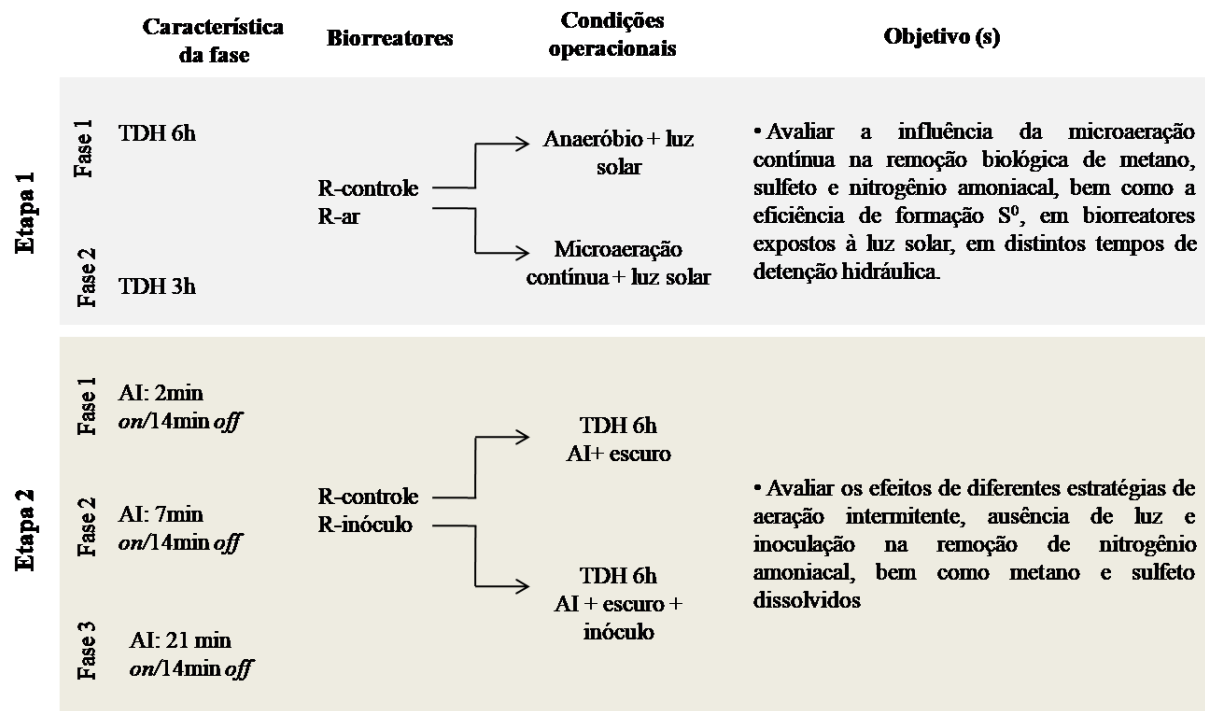


Figura 6.1 – Esquema experimental da pesquisa estruturada em 2 etapas e suas respectivas fases

O histórico de utilização deste sistema de tratamento de esgotos domésticos (UASB/biorreatores) pelo nosso grupo de pesquisa incitou o presente estudo, com novas condições operacionais, objetivando melhorias na qualidade do efluente anaeróbio. No decorrer da Etapa 1 e conhecimento da eficiência de remoção dos compostos estudados – metano, sulfeto e nitrogênio amoniacal, decidiu-se pelo delineamento e ajustes previamente pensados para a Etapa 2.

A Etapa 1 consistiu em testar os efeitos da microaeração contínua em um reator (R-ar) em relação ao controle (R-controle) a fim de avaliar a remoção dos compostos estudados. Ambos os biorreatores estiveram expostos a luz solar e não receberam inoculação. Esta etapa foi dividida em 2 fases - fase 1 com biorreatores operados com TDH 6h e a fase 2 com TDH 3h.

O objetivo da Etapa 2 foi a remoção simultânea dos compostos supracitados, em especial nitrogênio amoniacal. Para isso, os reatores foram cobertos, evitando a entrada da luz solar, foi realizada aeração intermitente e inoculação de micro-organismos. Foram testados três diferentes ciclos de aeração, operação com TDH 6h e a diferença entre os biorreatores foi a inoculação (lodo ativado, lodo anaeróbio e anammox) de um reator (R-inóculo) em relação ao outro (R-controle).

As taxas de ar aplicadas, os ciclos de aeração intermitente, os instrumentos de introdução do ar, as análises realizadas nas amostras afluente e efluente, bem como outros detalhes estão descritos nos tópicos seguintes.

6.2 Área de estudo

A pesquisa foi realizada no Centro de Pesquisa e Treinamento em Saneamento (CePTS) da UFMG, localizado junto à Estação de Tratamento de Esgotos do ribeirão Arrudas (ETE Arrudas) da COPASA, em Belo Horizonte, Minas Gerais. Uma fração do esgoto bruto afluente à ETE após passar por tratamento preliminar (grade grossa manual, grade fina mecanizada e desarenador) era direcionado ao CePTS. Posteriormente, parte deste esgoto era encaminhado ao reator UASB para tratamento e, posteriormente, o efluente anaeróbio alimentou os biorreatores. A Tabela 6.1 apresenta a caracterização do esgoto bruto, que foi coletado sempre durante o período da manhã.

Tabela 6.1 – Características do esgoto bruto afluente ao reator UASB

Parâmetros	Mediana	Média	Desvio Padrão
DQO _{total} (mgDQO _{total} .L ⁻¹) ¹	326	346	122
N-amoniacal (mgNH ₄ ⁺ .L ⁻¹) ¹	33	35	14
SO ₄ ²⁻ (mgSO ₄ ²⁻ .L ⁻¹) ¹	31,0	31,4	4,2
S ²⁻ (mgS ²⁻ .L ⁻¹) ²	1,9	2,0	1,2

Resultados obtidos a partir de ¹ 20 amostras simples e ²5 amostras simples.

6.3 Descrição do aparato experimental

O reator UASB (escala piloto) foi construído em polietileno (corpo do reator) e fibra de vidro (no separador trifásico) com volume total de 340 L, Ø 30 cm e h=400 cm. Os dois biorreatores (R-controle e R-ar/R-inóculo), construídos em acrílico, com volume útil total de 30,4 L cada, Ø 35 cm e h=40 cm. O fluxograma geral do aparato experimental está demonstrado na Figura 6.2.

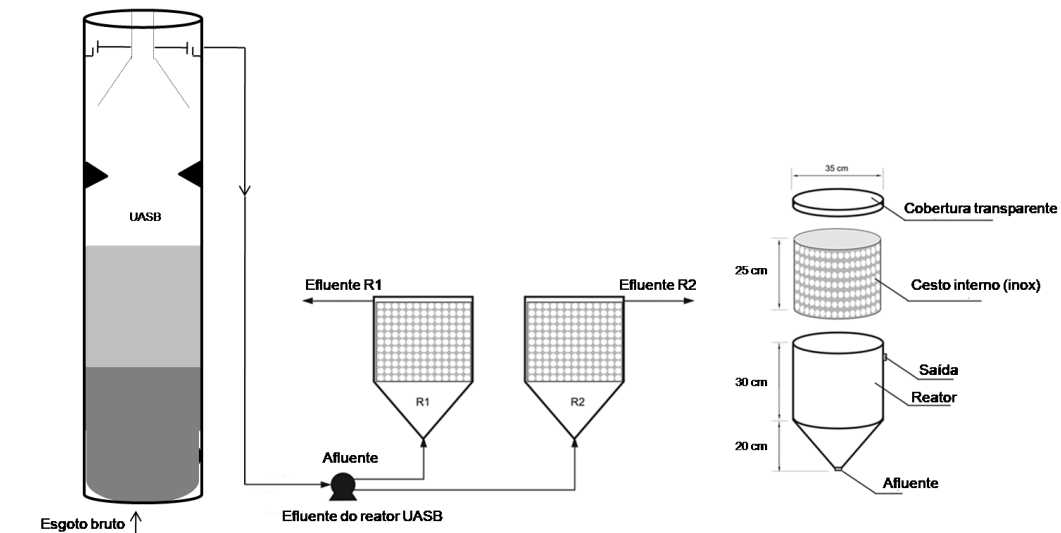


Figura 6.2 – A – Sistema acoplado UASB seguido dos biorreatores, sendo R1 o reator controle (R-controle) e R2 o reator com alterações (R-ar/inóculo) nas Etapas 1 e 2

Fonte: Este trabalho e adaptado de Garcia *et al.* (2017)

Na câmara cilíndrica dos biorreatores, o cesto interno foi projetado para manter o material de enchimento e permitir maior retenção de micro-organismos, e as perfurações do cesto permitiam a passagem do líquido para o interior do cesto. Além disso, os biorreatores foram projetados com configuração similar ao decantador do reator UASB – fundo em cone e fluxo ascendente e alimentação contínua (Figura 6.3). Para permitir a penetração de luz solar (Etapa 1), os biorreatores foram construídos com material transparente; na Etapa 2 eles foram cobertos impedindo a entrada da luz na porção cilíndrica dos reatores.

Para aumentar a retenção de micro-organismos, advindos com o efluente do reator UASB ou através de inoculação (de acordo com a etapa), anéis de polipropileno (Figura 6.4) foram usados como meio suporte, para imobilização dos micro-organismos, em todas as fases operacionais e em ambos os biorreatores. Cada biorreator foi preenchido com 230 anéis de polipropileno, sendo cada um deles com \varnothing 45 mm, $h=35$ mm e $86 \text{ m}^2/\text{m}^3$ de área superficial, que permaneceram de modo estático no interior dos biorreatores.



Figura 6.3 – Biorreatores construídos em material transparente evidenciando perfurações no cesto inox destinado a colocação de meio suporte (seta vermelha) e fundo cônico (seta azul)

Fonte: A autora

As principais características dimensionais do reator UASB e dos biorreatores estão resumidas na Tabela 6.2. O tempo de detenção hidráulica do reator UASB foi mantido em aproximadamente 5 horas.



Fonte: Azevedo *et al.* (2018)

Figura 6.4 – Anel de polipropileno usado como meio suporte para crescimento microbiano

Tabela 6.2 – Principais características e dimensões dos reatores

Características	UASB	Biorreatores
Material	Polietileno (corpo do reator)	Acrílico
Volume (L)	340	30
Altura (cm)	400	40
Diâmetro (cm)	30	35
TDH (h)	5*	variável

* O TDH foi alterado para 7h durante um período e retornado para 5h

6.4 Descrição das etapas da pesquisa

Os tempos de detenção hidráulica (TDH) de operação dos biorreatores foram adotados com base em resultados de trabalhos anteriores desenvolvidos por integrantes do grupo de pesquisa do Laboratório de Microbiologia da Escola de Engenharia (UFMG) (AZEVEDO *et al.*, 2018; GARCIA *et al.*, 2015, 2017). A partir destes, estabeleceu-se os TDH de 6 horas e 3 horas, representando as vazões de 120 L.d⁻¹ e 240 L.d⁻¹, respectivamente. Entretanto, na Etapa 2 os biorreatores foram operados apenas no TDH 6h. Os cálculos foram realizados sem considerar a porosidade do meio suporte que preencheu ambos os biorreatores, e que corresponde a 93%.

A pesquisa foi dividida em duas etapas, a saber: microaeração contínua/luz solar (Etapa 1) e aeração intermitente/escuro (Etapa 2), totalizando 27 meses de operação dos reatores (de agosto de 2017 a dezembro de 2019). Neste período estão incluídos os tempos de aclimação dos biorreatores, para crescimento da biomassa, os períodos de coleta de cada fase e os períodos em que houve interrupções no monitoramento por problemas operacionais. O período de monitoramento da Etapa 1 foi de 19 meses, sendo 9 meses para a fase 1 e 10 meses para a fase 2. Na Etapa 2, os biorreatores foram monitorados durante 8 meses, com aproximadamente 2,5 meses para cada fase.

Para partida dos biorreatores adotou-se um TDH igual a 8h, superior às fases operacionais a fim de proporcionar crescimento dos micro-organismos. Para o início de cada etapa optou-se por manter a aclimação por, aproximadamente, quatro semanas. Ao final da primeira etapa os biorreatores foram completamente esvaziados, para obtenção de amostras para balanço de enxofre. Contudo, esse esvaziamento não ocorreu ao final da Etapa 2 devido a pandemia do Covid-19.

6.4.1 Etapa 1 – Microaeração contínua/luz solar

A determinação da quantidade de ar introduzida no biorreator foi baseada em Janssen *et al.* (1995), que observaram que o controle na formação de sulfato (SO₄²⁻) e enxofre elementar (S⁰) pode ser feito através da quantidade de oxigênio. As diferentes formas de enxofre formadas a partir das relações de consumo de O₂/S²⁻ foram apresentadas pelos autores conforme Figura 6.5.

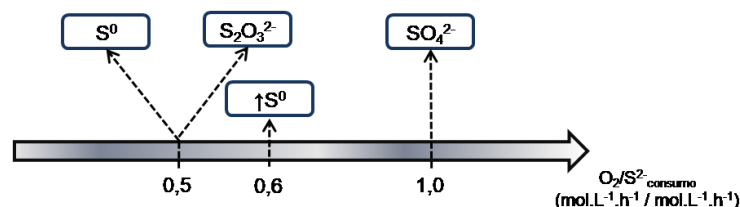


Figura 6.5 – Relação de consumo oxigênio/sulfeto e os principais produtos da oxidação do sulfeto

Com base nos resultados obtidos por Janssen *et al.* (1995) e objetivando a formação máxima de S^0 decidiu-se por tomar como ponto de partida as relações de $0,5 \text{ mol. L}^{-1}.\text{h}^{-1} O_2/\text{mol. L}^{-1}.\text{h}^{-1} S^{2-}$ a $1,0 \text{ mol. L}^{-1}.\text{h}^{-1} O_2/\text{mol. L}^{-1}.\text{h}^{-1} S^{2-}$, representando de $0,6$ a $2,4 \text{ gO}_2.\text{d}^{-1}$ nesta pesquisa. A vazão de ar a ser introduzida no biorreator (R-ar) foi então estimada com base nas concentrações afluentes de enxofre obtidas em estudos anteriores, um total de aproximadamente $0,010 \text{ gS.L}^{-1}$ (AZEVEDO, 2017). Associando as relações estequiométricas propostas por Janssen *et al.* (1995) e a concentração esperada de enxofre afluente nos biorreatores, foram calculadas as vazões de ar a serem introduzidas – de $1,5$ a $6,0 \text{ mL}_{\text{ar}}.\text{min}^{-1}$. Dadas as limitações dos instrumentos de aeração utilizados, a quantidade de ar usada foi mantida no mínimo da capacidade de aeração da bomba, aproximadamente $4 \text{ mL}_{\text{ar}}.\text{min}^{-1}$ ($0,008 \text{ L.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$). A Etapa 1 foi dividida em duas fases, de acordo com a variação do tempo de detenção hidráulica (TDH) nos biorreatores – fase 1 TDH 6h e fase 2 TDH 3h.

A microaeração foi realizada de modo contínuo através de instrumentos utilizados para aeração de aquário. O ar foi introduzido no R-ar por uma mangueira de silicone, ligada a bomba de aquário (marca Boyu, modelo S-510), que por sua vez foi conectada a uma mangueira perfurada instalada na base na parte cilíndrica do reator (porção inferior do cesto inox) (Figura 6.6). Desse modo as bolhas podiam ser geradas e distribuídas de modo ascendente juntamente com o afluente. Foi introduzido na saída da bomba um dispositivo plástico com regulagens para controle da quantidade de ar entrando na mangueira e, conseqüentemente, no biorreator. O ajuste das vazões de ar foi feito observando o volume da expansão em seringa esmerilhada por tempo. Em resumo, a bomba de ar era conectada à seringa, por uma mangueira. Assim que a bomba era ligada tomava-se nota do volume expandido da seringa e o tempo. Dessa forma, eram ajustadas as vazões de ar aplicadas no biorreator. A montagem dos instrumentos de aeração está apresentada na Figura 6.6. A Tabela 6.3 abaixo resume as condições operacionais da Etapa 1.

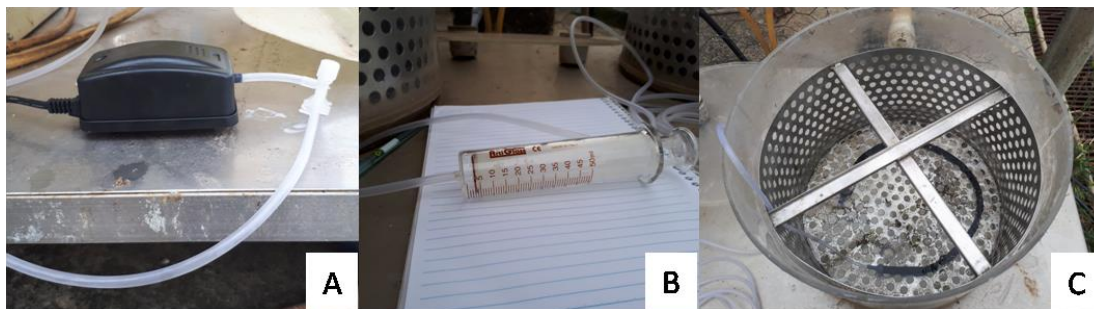


Figura 6.6 – Dispositivos utilizados para microaeração. A: Bomba de aquário e controlador de ar, B: seringa esmerilhada para medição de vazão de ar, C: mangueira perfurada alocada no fundo do cesto inox

Tabela 6.3 – Descrição das fases e condições operacionais nos biorreatores na Etapa 1

Fases	TDH	Biorreatores	Especificações
1	6h	R-controle	Luz solar + anaeróbio
		R-ar	Luz solar + microaeração ($0,008 \text{ L.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$)
2	3h	R-controle	Luz solar + anaeróbio
		R-ar	Luz solar + microaeração ($0,008 \text{ L.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$)

6.4.2 Etapa 2 – Aeração intermitente/inoculação

A fim de obter a remoção de nitrogênio amoniacal via nitrificação parcial e processo anammox concomitante à remoção de metano e/ou sulfeto, foi realizada a aeração intermitente nos biorreatores. Considerando a ausência de micro-organismos nitrificantes e anammox no efluente do reator UASB, confirmado pelos estudos anteriores, um dos biorreatores foi inoculado (R-inóculo).

Um total de 20,05 L de inóculo foi introduzido no R-inóculo. Deste volume, 10 L foram de lodo proveniente da linha de recirculação do sistema de lodos ativados com atividade nitrificante da Estação de tratamento de esgotos do Ribeirão Arrudas, 10 L de lodo anaeróbio proveniente de reator UASB tratando esgoto doméstico e 50 mL lodo com atividade anammox; com concentração de sólidos totais voláteis (STV) da mistura igual a 21 gSTV.L^{-1} . Antes da partida do sistema, a mistura do inóculo com o meio de cultura, composto de efluente de reator UASB e solução de nitrito de sódio (66 mg.L^{-1}), foi recirculada no R-inóculo por 14 dias, a fim de permitir crescimento e aderência da biomassa ao meio suporte. O lodo misto adicionado ao reator foi baseado em Ye *et al.* (2018) que propuseram a adição de inóculo misto composto por lodo aeróbio, lodo anaeróbio, lodo com atividade simultânea de nitrificação parcial/anammox

e desnitrificação, e lodo anammox em RBS objetivando a redução do tempo de partida de reator anammox, cujo propósito foi a remoção de nitrogênio.

Ambos os reatores foram cobertos com lona preta para impedir a entrada de luz solar e submetidos à aeração intermitente (AI) desde o início da operação. O reator controle (R-controle) foi operado nas mesmas condições com única diferença que este não foi inoculado, assim toda biomassa deste reator foi proveniente do efluente do reator UASB.

O sistema de aeração foi composto por um compressor de ar (marca Boyu) conectado por uma mangueira de silicone até a mangueira perfurada instalada na base na parte cilíndrica do reator, assim como no sistema de microaeração da Etapa 1. A capacidade de aeração do compressor, de acordo com fabricante é de $2 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ por saída, como o dispositivo usado continham 2 saídas o total é de $4 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ ($240 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$). Para ligar e desligar o compressor foi utilizado um temporizador automático modelo MT-2001 (Didziel), que conta com 720 programações, permitindo curtos intervalos de programações.

A Etapa 2 foi dividida em três fases, de acordo com os ciclos de aeração adotados conforme Tabela 6.4. Ambos os biorreatores foram operados com TDH de 6h em todas as fases.

Tabela 6.4 – Descrição das fases e condições operacionais nos biorreatores na Etapa 2

Fases	Fase aeróbia (min)	Fase anóxica (min)	Biorreatores	Especificações
1	2	14	R-controle	AI + escuro
			R-inóculo	AI + escuro + inoculação
2	7	14	R-controle	AI + escuro
			R-inóculo	AI + escuro + inoculação
3	21	14	R-controle	AI + escuro
			R-inóculo	AI + escuro + inoculação

6.5 Amostragem e monitoramento

6.5.1 Amostragem da fase líquida

As amostras líquidas representaram esgoto bruto, efluente do reator UASB e efluente dos biorreatores (R-controle e R-ar/R-inóculo) que foram obtidas duas vezes por semana. Para cada composto analisado a frequência de amostragem foi específica, conforme detalhado nos tópicos

seguintes. As amostras coletadas em frascos plásticos foram acondicionadas em caixa de isopor com gelo até o transporte para os laboratórios de análises.

Para análises de gases dissolvidos (sulfeto e metano) o ponto de coleta foi logo após o efluente deixar os reatores - Ponto 1 para efluente de UASB e Ponto 3 para efluente dos biorreatores (Figura 6.7). Para análises de metano e sulfeto dissolvidos, a coleta foi realizada tomando o cuidado para evitar a turbulência do líquido minimizando, dessa forma, a perda destes gases. Para as demais análises, o efluente do reator UASB foi coletado em um ponto imediatamente antes do mesmo adentrar aos biorreatores (Ponto 2, Figura 6.7).

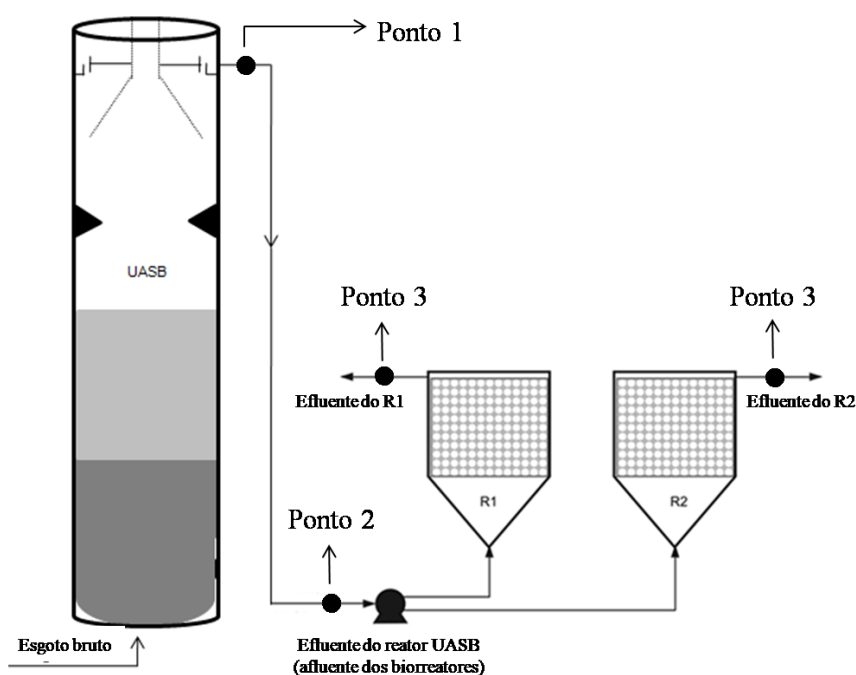


Figura 6.7 – Ponto de coleta para análise de gases dissolvidos e demais parâmetros

6.5.2 Amostragem da fase sólida

Amostras sólidas correspondem à biomassa aderida nos anéis plásticos e do lodo acumulado na porção cônica dos biorreatores. As amostras foram submetidas a análises de biologia molecular e armazenadas para análises físico-químicas (de enxofre elementar). Amostras da biomassa foram obtidas a partir da raspagem de anéis plásticos, escolhidos aleatoriamente no interior de cada biorreator, e tomando o cuidado para escolher anéis de diferentes alturas e da periferia e centro da porção cilíndrica. Para coleta do lodo procedeu-se com a abertura da válvula de descarte situada na porção inferior dos biorreatores.

6.6 Parâmetros monitorados na fase líquida

6.6.1 pH, potencial de oxidação-redução, oxigênio dissolvido e temperatura

Em cada coleta foram monitorados em campo os parâmetros pH, oxigênio dissolvido (OD), temperatura e potencial de oxidação-redução (pOR) utilizando sondas multiparamétricas (modelo HACH HQ40D). As sondas eram introduzidas no interior dos biorreatores e em amostras do efluente do UASB. Determinou-se o pOR a partir de eletrodo combinado de platina com referência Ag/AgCl. Os valores obtidos foram corrigidos para o eletrodo padrão de hidrogênio conforme instruções do fabricante.

Na Etapa 2, em que os biorreatores foram aerados de modo intermitente, a medição dos parâmetros supracitados era realizada majoritariamente uma única vez durante a coleta, ou seja, não era feita com a bomba ligada e desligada.

6.6.2 Demanda Química de Oxigênio (DQO)

As amostras do esgoto bruto, efluente de UASB e efluente dos biorreatores foram coletadas duas vezes por semana. Em laboratório foram analisadas por método colorimétrico conforme procedimento padrão descrito no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012).

6.6.3 Série de Sólidos

Sólidos suspensos totais (SST) e voláteis (SSV) foram monitorados no afluente e efluente dos biorreatores pelo método gravimétrico (APHA, 2012).

6.6.4 Enxofre

6.6.4.1 Sulfeto dissolvido

As análises de sulfeto dissolvido foram realizadas segundo metodologia adaptada de Plas *et al.* (1992). A determinação consiste num método colorimétrico e a curva padrão feita com solução padrão de sulfeto. Os cuidados nas coletas e os procedimentos de pré-tratamento foram realizados de acordo com o método 4500 presente no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012).

Em suma, no campo as amostras foram coletadas evitando ao máximo a turbulência e, posteriormente, os sólidos removidos adicionando 200 µL hidróxido de sódio 6N e cloreto de alumínio. Após o período de sedimentação, 200 µL do sobrenadante era adicionado em tubos

falcon contendo 10 mL de acetato de zinco, previamente preparados em laboratório. As amostras foram avaliadas em triplicata.

No laboratório era adicionado em cada tubo *falcon* 1 mL da solução (0,5% w/v) dimetil-p-fenilenodiamina (DMPD) e 70 µL da solução (10% w/v) de sulfato férrico amoniacal. Após 20 minutos de reação as amostras eram lidas em espectrofotômetro com comprimento de onda de 663 nm.

6.6.4.2 Sulfato

O método turbidimétrico (APHA, 2012) foi usado para avaliar a concentração de sulfato (SO_4^{2-}) nas amostras. O princípio desse método baseia-se na precipitação do íon SO_4^{2-} em meio ácido acético com cloreto de bário (BaCl_2), formando cristais uniformes de sulfato de bário (BaSO_4) (Equação 6.1). A absorvância da suspensão de BaSO_4 é medida em espectrofotômetro com comprimento de onda de 420 nm e a concentração de SO_4^{2-} determinada segundo uma curva padrão. As amostras foram avaliadas em triplicata.



6.6.4.3 Enxofre elementar

O enxofre elementar presente nas amostras líquidas foi extraído com clorofórmio e quantificado por cromatografia líquida (HPLC) com coluna PRP1 de fase reversa (15cm X 4,1mm) segundo especificação de Lauren e Watkinson (1985) e Henshaw *et al.* (1998). Para 40 mL de amostra era adicionado 10 mL de clorofórmio. Após agitação a 250 rpm (*overnight*) as amostras eram filtradas em filtro seringa com poro de 0,45 µm e então submetidas a análise cromatográfica.

Devido a problemas no equipamento de HPLC do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental/UFMG as análises de S^0 foram realizadas no Laboratório de Caracterização Molecular e Espectrometria de Massas da Universidade Federal de Ouro Preto/MG.

6.6.4.4 Eficiência do sistema e distribuição das espécies de enxofre

As transformações biológicas referentes ao ciclo do enxofre foram avaliadas através da determinação das concentrações do S^0 , SO_4^{2-} e S^{2-} no efluente do reator UASB e dos biorreatores, e para o sulfato também no esgoto bruto.

A fim de compreender a principal via de oxidação do sulfeto (parcial ou total) a partir de todo sulfeto afluente aos biorreatores foram calculadas também as razões $S^0_{\text{produzido}}/S^{2-}_{\text{afluente}}$ e $SO_4^{2-}_{\text{produzido}}/S^{2-}_{\text{afluente}}$, levando em consideração apenas a massa de enxofre.

O balanço de enxofre foi realizado conforme Sousa *et al.* (2017) através da análise das cargas das espécies de enxofre que entraram e saíram dos biorreatores. A partir disso foi calculada a representividade (em porcentagem) de cada fração de enxofre (S^0 , SO_4^{2-} e S^{2-}) em relação ao enxofre total afluente.

6.6.5 Série Nitrogenada

As concentrações de nitrogênio amoniacal ($N-NH_4^+$), nitrito ($N-NO_2^-$) e nitrato ($N-NO_3^-$) foram medidas no esgoto bruto, efluente de UASB e dos biorreatores. Para amônia e nitrito foi utilizado o método colorimétrico, segundo especificações do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012) e para nitrato o kit Nitrover® 5 nitrate reagente Hach, segundo orientações do fabricante.

6.6.6 Alcalinidade

Para determinação da alcalinidade foi utilizado o método titulométrico segundo especificações do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012).

6.6.7 Metano

Para avaliação do metano dissolvido amostras foram coletadas sem turbulência, evitando desse modo o desprendimento do gás dissolvido. O efluente do reator UASB foi coletado no ponto imediatamente após a região em que o efluente deixa o reator (Figura 6.7).

Os procedimentos de análise de metano dissolvido no efluente foram os mesmos adotados por Souza *et al.* (2011) a partir de adaptações do protocolo realizado por Alberto *et al.* (2000) e Hartley & Lant (2006). As amostras foram coletadas em frascos de antibiótico evitando turbulências, vedados e armazenados sob refrigeração até o momento da análise. Antes desta, os frascos foram retirados da refrigeração, incubados a 25°C e aclimatados por aproximadamente 50 minutos. Após este período foram submetidos à agitação por 10 minutos para permitir equilíbrio da fase líquida com a gasosa.

Do *headspace* do frasco foram coletados 0,5 mL do gás que foi então analisado por cromatografia gasosa no cromatógrafo Perkin Elmer (gás de arraste hélio e coluna empacotada

carbowax). Em seguida, os frascos foram pesados e, a partir da tara de cada frasco, foi determinada a massa de água e, conseqüentemente, o volume de líquido em cada (massa específica da água de $1,0 \text{ g.mL}^{-1}$) e, por fim, determinado o volume da fase gasosa por diferença em relação à capacidade total do frasco. A concentração de metano dissolvido foi determinada seguindo Equação 6.2 a seguir (SOUZA, 2010):

$$[CH_4]_{dissol} = \frac{[\%CH_4]_{gás} \cdot [d \cdot V_{gás} + (P_T - P_V) \cdot K_H \cdot V_L]}{100 \cdot V_L} \quad (6.2)$$

Na qual:

$[CH_4]_{dissolvido}$: Concentração de metano dissolvido em mg.L^{-1} ;

$[\%CH_4]_{gás}$: Concentração percentual de metano na fase gasosa do frasco (%);

D: Densidade do metano (calculada como $595,4 \text{ mg.L}^{-1}$ a 25°C e $0,91 \text{ atm}$);

$V_{gás}$: Volume da fase gasosa (mL);

P_T : Pressão atmosférica ($0,910 \text{ atm}$ para a cidade de Belo Horizonte, MG);

P_V : Pressão de vapor de água ($0,032 \text{ atm}$ a 25°C);

K_H : Constante da Lei de Henry para metano ($21,5 \text{ mg.L}^{-1} \cdot \text{atm}^{-1}$ a 25°C);

V_L : Volume da fase líquida (mL).

Um resumo dos parâmetros físico-químicos monitorados está apresentado na Tabela 6.5.

Tabela 6.5 – Parâmetros monitorados, frequência e pontos de amostragem

Parâmetro	Método adotado	Frequência de análise	Pontos de amostragem	Referência	
Compostos de enxofre	S^{2-}	Colorimétrico	2x semana	EB, efluente de UASB e dos biorreatores	Plas <i>et al.</i> (1992)
	SO_4^{2-}	Turbidimétrico	2x semana	EB, efluente de UASB e dos biorreatores	APHA <i>et al.</i> (2012)
	S^0	Cromatografia líquida de alta performance	2x semana	Efluente de UASB e dos biorreatores	Lauren e Watkinson (1985) ; Henshaw <i>et al.</i> (1998)
Compostos nitrogenados	NH_4^+	Colorimétrico	2x semana	EB, efluente de UASB e dos biorreatores	APHA <i>et al.</i> (2012)
	NO_3^-	Colorimétrico		Efluente de UASB e dos biorreatores	Kit Nitriver® 5 nitrate reagent Hach
	NO_2^-	Colorimétrico			APHA <i>et al.</i> (2012)
	Alcalinidade	Titulométrico		APHA <i>et al.</i> (2012)	
Compostos de carbono	DQO	Colorimétrico	2x semana	EB, efluente de UASB e dos biorreatores	APHA <i>et al.</i> (2012)
	CH_4	Cromatografia gasosa	2x semana	Efluente de UASB e dos biorreatores	Souza (2010)
Sólidos	SST / SSV / SSF	Gravimétrico	1x semana	EB, efluente de UASB e dos biorreatores	APHA <i>et al.</i> (2012)

6.7 Análise microbiológica

Para caracterização da comunidade microbiana, amostras da biomassa aderida aos anéis de polipropileno e do lodo foram analisadas através de técnicas de biologia molecular para compreender os processos biológicos que ocorreram nas diferentes regiões dos biorreatores (porções cilíndrica e cônica), submetidos a diferentes condições operacionais. As análises foram realizadas apenas para as amostras coletadas ao final da Etapa 1, embora o material coletado na Etapa 2 esteja armazenado (congelado a $-80^{\circ}C$) para futura avaliação.

6.7.1 Caracterização da comunidade microbiana

A investigação da comunidade microbiana presente nos biorreatores foi realizada através de sequenciamento massivo do amplicon 16S rRNA gene. Com ajuda de uma espátula a biomassa aderida nos anéis foi removida e congelada, da mesma forma amostras do lodo foram

preservadas. Estas amostras foram obtidas ao final das fases da Etapa 1. As técnicas empregadas foram: extração de DNA e seqüenciamento de nova geração (SNG).

- **Extração de DNA**

As amostras coletadas nos biorreatores foram centrifugadas a 4000 rpm por 20 minutos e lavadas por três vezes sucessivas com tampão fosfato-salino (PBS 1X, NaCl, Na₂HPO₄, NaH₂PO₄, pH = 7,2-7,4). Alíquotas de 0,5g foram submetidas a extração do DNA genômico dos micro-organismos com o kit de extração *FastDNATM Spin for Soil (MPBiomedicals)*, de acordo com as instruções do fabricante.

Para a verificação do resultado da extração, alíquotas de 3,0 µl do DNA extraído das amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose a 1,2% (80 volts, 40 minutos). O DNA foi quantificado em espectrofotômetro *Nanodrop 1000 (ThermoScientific)*.

- **Seqüenciamento de nova geração (SNG) para análise da diversidade microbiana**

O DNA extraído das amostras dos reatores foi submetido à análise pela técnica de seqüenciamento de nova geração (SNG) com objetivo de avaliar em detalhes as comunidades microbianas dos reatores durante as diferentes fases de operação da Etapa 1 (microaeração contínua).

O seqüenciamento foi realizado utilizando a plataforma MiSeq (Illumina) na Universidade McGill (McGill University, Montreal, Canadá) e Genome Quebec Innovation Centre (Montreal, Canadá) usando primers 926F (50-AAACTYAAAKGAATWGRCGG-30) e 1392R (50 -ACGGGCGGTGWGTRC-30), que tem como alvo a região V6-V8 do RNAr 16S de *Archaea* e *Bacteria* (BOLYEN *et al.*, 2019; GUILFORD *et al.*, 2019). As seqüências obtidas foram analisadas utilizando-se o software QIIME - Quantitative Insights Into Microbial Ecology (qiime2-2019.4) (CAPORASO *et al.*, 2011), juntando seqüências *forward* e *reverse*, e removendo seqüências de baixa qualidade e quiméricas. As seqüências restantes foram agrupadas em unidades taxonômicas operacionais (*Operational taxonomic units - OTUs*) com 97% de similaridade (método *usearch61*) utilizando o banco de dados SILVA (Silva 132_99_926F1392R_CLASSIFIER_2019_4).

6.8 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à estatística descritiva utilizando Excel, o mesmo software utilizado para elaboração dos gráficos box-plot. O teste de múltiplas amostras independentes de *Kruskal-Wallis*, com nível de significância de 5%, foi adotado para comparação entre as amostras do efluente do reator UASB e dos biorreatores. Para comparação entre as concentrações medianas dos compostos e eficiências de remoção entre os biorreatores foi usado o teste de comparação de duas amostras independentes de *Mann-Whitney*, com nível de significância de 5%; ambos os testes foram realizados utilizando-se o *software Statistica 10.0*.

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presente tese apresenta um estudo da aplicação de diferentes estratégias operacionais em biorreatores para pós-tratamento de efluente de reator UASB visando a remoção de metano, sulfeto e nitrogênio amoniacal. Para isso, o estudo foi dividido em duas etapas – Etapa 1 (microaeração + luz solar) e Etapa 2 (aeração intermitente + escuro + inoculação). Os resultados obtidos em cada etapa, com suas respectivas fases, estão apresentados a seguir.

7.1 Efeito da microaeração no pós-tratamento de efluente de reator UASB em biorreatores (Etapa 1)

Os resultados apresentados neste tópico se referem ao objetivo específico 1. Uma parcela dos resultados aqui apresentada foi publicada no artigo “*Impact of microaeration bioreactor on dissolved sulfide and methane removal from real UASB effluent for sewage treatment*” (CABRAL *et al.*, 2020). *Water Science and Technology*, v.81 (9), p.1951–1960, 2020.

7.1.1 Testes para microaeração no biorreator

Após a montagem do aparato de aeração (descrito no item Material e Métodos) foram realizados testes para avaliar e ajustar a vazão de ar introduzida no biorreator (R-ar) durante a Etapa 1.

Dada as divergências nas taxas de ar aplicadas na literatura, optou-se por calcular estas com base nas relações estequiométricas de oxidação parcial do sulfeto (e formação de S^0) propostas por Janssen *et al.* (1995). A menor vazão de ar estimada com base nesta estequiometria foi igual a $1,5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ de ar, no TDH 6h ($0,003 \text{ L}_{\text{ar}} \cdot \text{L}_{\text{reator}}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$). No entanto, a vazão média de ar alcançada através do dispositivo (bomba de aquário) inicialmente usado para microaeração foi de $4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ de ar ($0,008 \text{ L}_{\text{ar}} \cdot \text{L}_{\text{reator}}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$).

7.1.2 Monitoramento de parâmetros com sonda multiparamétrica

Os valores de oxigênio dissolvido (OD), potencial de oxidação-redução (pOR), pH e temperatura obtidos estão apresentados na Tabela 7.1.

Tabela 7.1 – Parâmetros monitorados no interior dos biorreatores (R-controle: sem microaeração, R-ar: com microaeração) na Etapa 1

Fases	Biorreator	OD (mg.L ⁻¹)	pOR (mV)*	pH	Temperatura (°C)
1 (TDH 6h)	R-controle	0,31 (0,7)	-90,6 (21,5)	7,19 (0,2)	24,2 (2,5)
	R-ar	0,33 (0,5)	-82,3 (22,6)	7,15 (0,2)	24,9 (2,4)
2 (TDH 3h)	R-controle	0,26 (0,1)	-91,8 (53,0)	7,10 (0,2)	21,9 (2,7)
	R-ar	0,25 (0,1)	-87,9 (22,9)	7,10 (0,2)	22,8 (2,7)

Valores se referem à mediana (desvio padrão)

* Eletrodo de hidrogênio

Em relação ao oxigênio dissolvido, os dados apresentados na Tabela 7.1 indicam que as concentrações de OD não foram distintas entre o R-controle e R-ar. Como o limite de detecção de sensores de oxigênio é baixo, o potencial de oxidação-redução tem sido considerado por alguns autores como melhor parâmetro para monitoramento de sistemas microaerados (JANSSEN *et al.*, 1995; KRAYZELOVA *et al.*, 2014). Entretanto, com base nos resultados apresentados na Tabela 7.1 e na estatística dos dados, observou-se que mesmo este parâmetro não diferiu significativamente pelo teste de *Mann-Whitney* (5%) entre os biorreatores, podendo ser um indicativo de que a quantidade de ar introduzida foi insuficiente.

Durante a fase 1 (TDH 6h) nota-se que a concentração de OD foi superior no R-ar (0,33 mg.L⁻¹) em relação ao R-controle (0,31 mg.L⁻¹), e em conformidade com a condição operacional. Contudo, estes valores não foram significativamente diferentes de acordo com teste de comparação de amostras independentes de *Mann-Whitney* (5% de significância). Os valores estão de acordo com as medições para potencial de oxidação-redução, ou seja, maior no reator microaerado (-82,3 mV para eletrodo de hidrogênio) em relação ao R-controle (-90,6 mV para eletrodo de hidrogênio). Na fase 2 (TDH 3h) os resultados de OD e pOR não estiveram em concordância com as condições nos biorreatores. A concentração de OD foi superior no R-controle, porém o pOR foi inferior neste reator.

Com base na revisão de literatura apresentada neste documento, pode-se observar que uma variedade de concentrações de OD foram consideradas eficientes no tratamento de efluente anaeróbio como $<0,3 \text{ mg.L}^{-1}$ (WANG *et al.*, 2016) e $<0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ (XU *et al.*, 2012) em sistemas com biomassa livre, e, igual a $2,5 \text{ mg.L}^{-1}$ (LU *et al.*, 2013), entre $0,05$ e $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ (VALDÉS *et al.*, 2016), dentre outros, em reatores com biomassa aderida. Yu *et al.* (2014) observaram que um nível relativamente alto de oxigênio dissolvido como $0,33 \text{ mg.L}^{-1}$, em reator anaeróbio de leito granular expandido (EGSB), foi suficiente para inibir bactérias redutoras de sulfato e oxidadoras de enxofre. No entanto, outros estudos apontam concentrações mais elevadas de OD sem inibir a atividade destas bactérias.

Observa-se que a microaeração não afetou as condições anóxicas no R-ar uma vez que o pOR se manteve negativo. A baixa concentração de oxigênio detectada no R-ar pode estar relacionada à baixa taxa de transferência deste gás para fase líquida, sobretudo no menor TDH, e pelo tamanho das bolhas de ar formadas. Estes fatores podem estar associados tanto à taxa de ar aplicada quanto à configuração do reator. No que se refere à configuração, a altura da coluna de líquido pode ter sido baixa para a distribuição e formação ideal das bolhas no interior do reator.

A dosagem de ar deve ser sempre controlada e monitorada a fim de possibilitar a oxidação dos poluentes desejados, mas impedindo um distúrbio aos micro-organismos do sistema de tratamento. No entanto, há uma dificuldade na escolha do parâmetro para monitoramento. Isto porque baixas concentrações de OD não podem ser avaliadas através de alguns instrumentos de medição e porque com relação ao pOR há uma variedade de valores para caracterizar sistemas microaeróbios (JENICEK *et al.*, 2010). Ademais, com relação a este último parâmetro, a maioria dos trabalhos não deixa claro se os resultados são expressos em relação ou não ao eletrodo de hidrogênio.

O pH tem grande relevância no monitoramento dos sistemas de tratamento anaeróbio de esgotos, sobretudo em relação à influência que exerce nas formas de sulfeto. De acordo com os dados apresentados na Tabela 7.1 em ambos os biorreatores e fases predominou pH próximo a neutralidade e que favorece que 50% do sulfeto esteja na forma dissociada (HS^-) e 50% não dissociada (H_2S).

7.1.3 Monitoramento do metano dissolvido

O metano dissolvido no efluente do reator UASB pode potencialmente desprender para a atmosfera na forma de gás residual, impactando negativamente o meio ambiente, dado o potencial de efeito estufa deste gás. Dessa forma, sistemas de pós-tratamento do efluente proveniente do reator UASB que visem à remoção ou recuperação do metano dissolvido são de extrema importância.

As concentrações medianas de metano no efluente do reator UASB iguais a $20,0 \text{ mgCH}_4\cdot\text{L}^{-1}$ em ambas as fases da Etapa 1, confirmaram que parte deste gás, formado no tratamento anaeróbio, permaneceu dissolvido. A importância do pós-tratamento se dá a fim de evitar que o metano seja lançado na atmosfera a partir do desprendimento da fase líquida. Esse valor foi similar ao observado por Souza *et al.* (2011) que determinaram concentrações de metano dissolvido no efluente de reatores UASB (escala piloto, demonstração e real), TDH de 5 a 12h, na faixa de $18,0$ a $22,0 \text{ mg CH}_4\cdot\text{L}^{-1}$ tratando esgoto doméstico, representando 36 a 41% do metano total produzido. Silva-Teira *et al.* (2017) observaram $29,0 \text{ mgCH}_4\cdot\text{L}^{-1}$ em efluente de UASB tratando esgoto sintético, correspondendo de 20 a 30% do metano total produzido no reator com temperatura igual a $21 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

As concentrações de metano no efluente do reator UASB e dos biorreatores em ambas as fases da Etapa 1 estão apresentadas na Figura 7.1. O gráfico aponta a redução do metano no pós-tratamento durante a fase 1, principalmente no R-ar. As concentrações medianas no efluente dos biorreatores foram $14,0$ e $9,0 \text{ mgCH}_4\cdot\text{L}^{-1}$ para R-controle e R-ar, respectivamente (Figura 7.1). As concentrações medianas de CH_4 foram significativamente menores nos biorreatores em relação ao efluente do reator UASB, bem como significativamente menor no R-ar em comparação ao R-controle na fase 1. Na fase 2, o metano não foi removido no R-controle e a remoção foi muito baixa no R-ar.

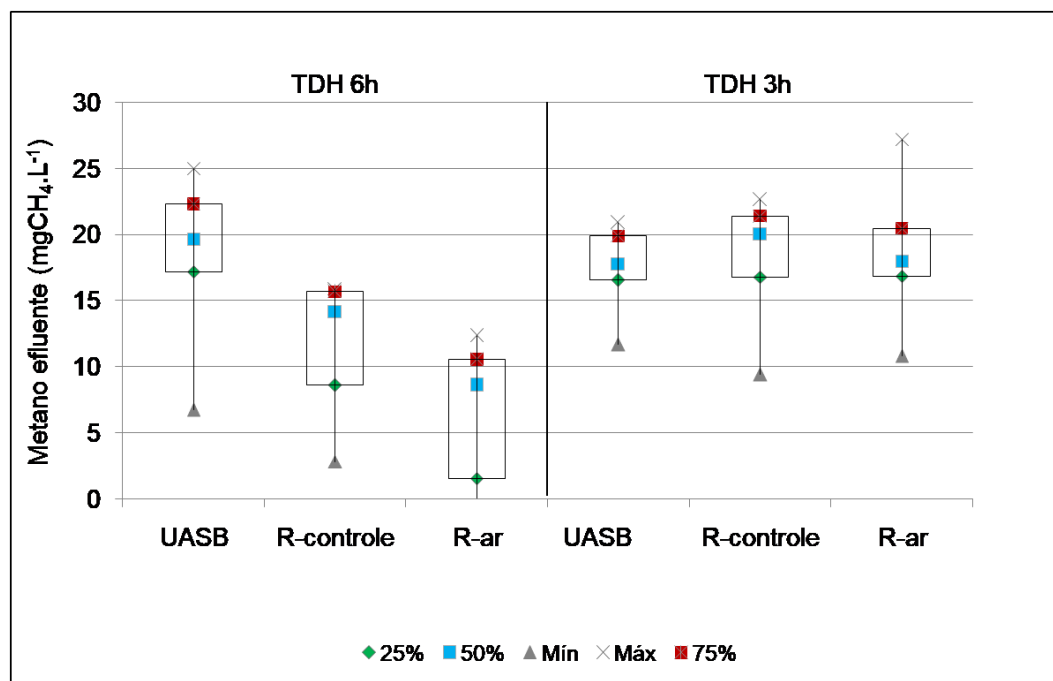


Figura 7.1 – Box-plot das concentrações medianas de metano no efluente do reator UASB, R-controle (sem microaeração) e R-ar (com microaeração) nas fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1

Do metano afluente aos biorreatores, a maior remoção foi obtida na fase 1, com eficiência igual a 30% no R-controle e 55% no R-ar (Figura 7.2). A comparação das eficiências de remoção pelo teste de *Mann-Whitney* indicou que no R-ar a eficiência foi significativamente superior ao R-controle. Na fase 2 não ocorreu remoção de metano em ambos os biorreatores. Embora um residual de metano tenha permanecido no efluente dos biorreatores, os valores mencionados indicam que o pós-tratamento, sobretudo a microaeração, favoreceu uma remoção significativamente maior do CH₄ dissolvido no R-ar em TDH mais elevado, em que a transferência de oxigênio foi favorecida no sistema. Ademais, observa-se que as eficiências de remoção foram inferiores com o aumento das cargas de CH₄, que foram iguais a 80,0 g.m⁻³.d⁻¹ e 160,0 g.m⁻³.d⁻¹ nas fases 1 e 2, respectivamente. Hatamoto *et al.* (2011) observaram que a diminuição do TDH pela metade (de 2h para 1h) diminuiu em 50% a remoção de metano em reator DHS com microaeração.

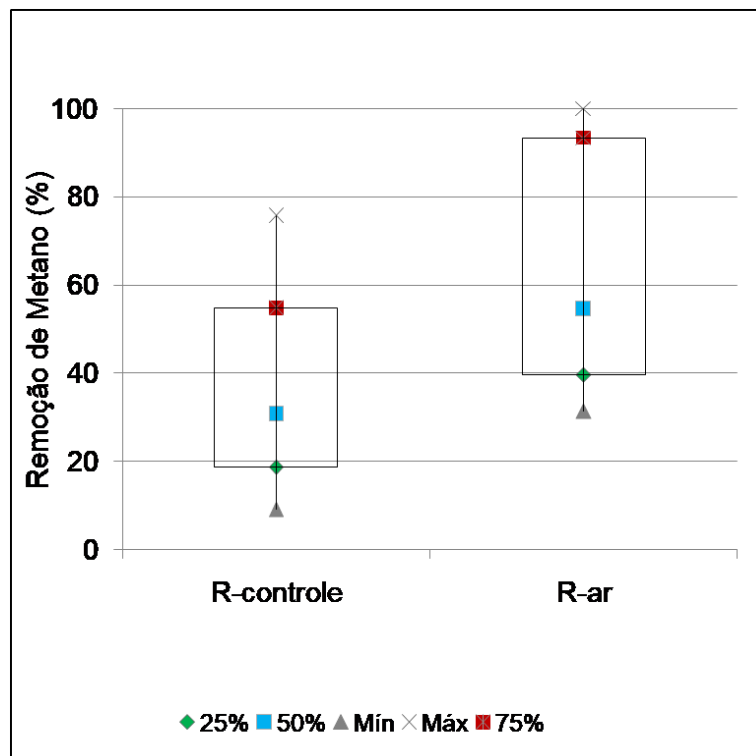


Figura 7.2 – Box-plot da eficiência de remoção de metano dissolvido nos biorreatores (R-control: sem microaeração, R-ar: com microaeração) na fase 1 (TDH 6h) da Etapa 1

A taxa de remoção de metano no R-control na fase 1 (TDH 6h) foi superior ao da fase 2 (TDH 3h) em concordância com as eficiências de remoção acima reportadas. Contudo, a diminuição do TDH e, logo, aumento da vazão não implicou em redução considerável da taxa de remoção de metano no R-ar, com valores iguais a 44,0 e 40,0 $\text{mgCH}_4\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ nas fases 1 e 2 respectivamente. A Figura 7.3 sintetiza a taxa e eficiência de remoção de metano nos biorreatores nas fases estudadas.

Alrashed *et al.* (2018) estudaram a oxidação do metano acoplada à desnitrificação em reator de biofilme de membrana e observaram influência do TDH no desempenho do sistema. A redução do TDH de 12h para 4h, e logo, aumento da vazão, diminuiu drasticamente a remoção de NO_3^- e contribuiu para maior concentração de CH_4 no efluente. Este resultado foi associado à cinética de oxidação do metano pelos micro-organismos. No presente trabalho, a redução do TDH da fase 1 para a fase 2 pode ter interferido na cinética de oxidação do metano pelas bactérias metanotróficas, e não no transporte de massa de metano nos biorreatores, uma vez que os grupos envolvidos na oxidação do metano foram detectados quando o TDH foi igual a 3h (como será apresentado no item 7.2.2), mas a remoção de metano foi bem inferior em relação a fase anterior. No entanto, o processo de desnitrificação acoplado a oxidação do metano não seria

possível nesta pesquisa uma vez que a nitrificação não foi estabelecida no interior dos biorreatores.

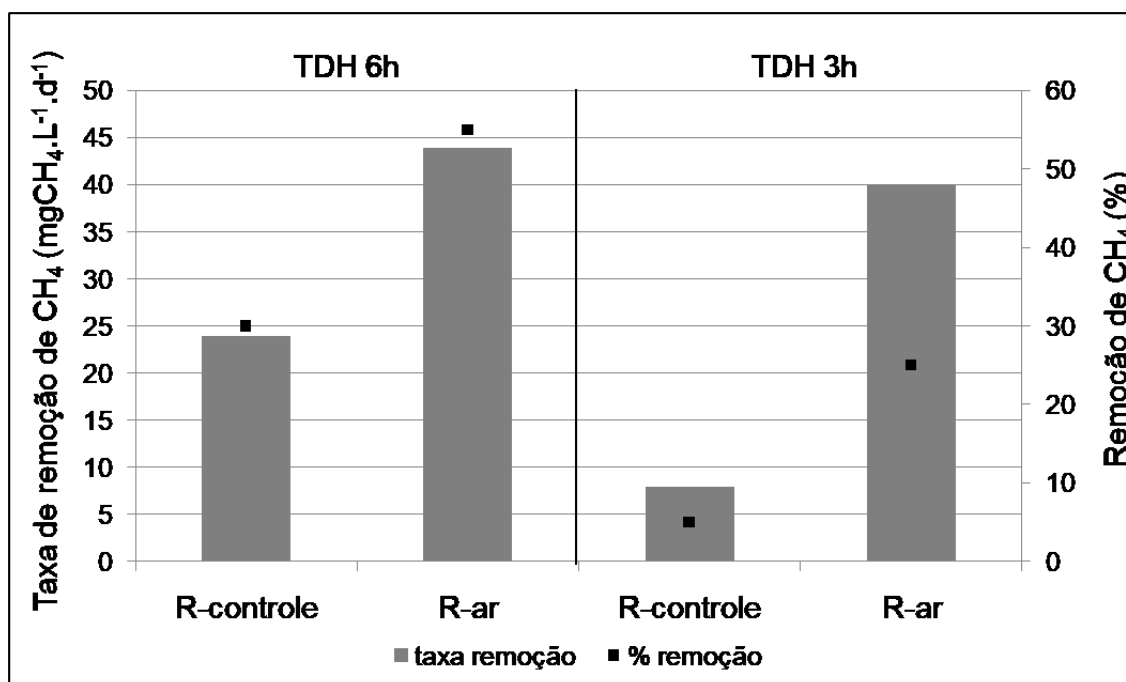


Figura 7.3 – Taxa e eficiência de remoção de metano dissolvido nos biorreatores (R-controle: sem microaeração, R-ar: com microaeração) nas fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h)

7.1.4 Monitoramento dos compostos sulfurosos

As concentrações medianas de sulfeto dissolvido efluente na fase 1 (TDH 6h) foram 13,0, 6,0 e 3,0 mgS²⁻.L⁻¹ e na fase 2 (TDH 3h) 19,0, 15,0 e 13,0 mgS²⁻.L⁻¹ para UASB, R-controle e R-ar, respectivamente (Figura 7.4). Em ambas as fases as concentrações medianas de sulfeto efluente aos biorreatores foram significativamente menores em relação ao afluente (efluente do reator UASB). O pós-tratamento do efluente do reator UASB foi responsável pela remoção do sulfeto dissolvido, assim como observado nos estudos anteriores usando o mesmo aparato experimental, porém na ausência de oxigênio (AZEVEDO *et al.*, 2018; GARCIA *et al.*, 2015, 2017).

A presença de sulfeto no efluente anaeróbico já foi reportada por diversos autores com valores de perda variando de 57 a 64% (SOUZA, 2011) e 90% da produção teórica com pH neutro (SANTOS *et al.*, 2018). A concentração de sulfeto no efluente de reator anaeróbico depende das características do esgoto, ou seja, varia de acordo com a composição do esgoto, que está por sua vez relacionado aos hábitos sócio-econômicos da população contribuinte (MORAES *et al.*, 2013).

A concentração de sulfeto no efluente do R-ar foi inferior ao R-controle nas duas fases testadas, embora sem diferença significativa entre eles. Contudo, os valores foram superiores ao permitido pela legislação nacional (Resolução CONAMA 430/2011, BRASIL, 2011) e do estado de Minas Gerais (DN Conjunta COPAM/CERH-MG 01/2008) que dispõem sobre padrões de lançamento de efluentes e estabelecem o limite de $1\text{mgS}\cdot\text{L}^{-1}$. Indicando a necessidade de aprimoramento do sistema para melhoria na qualidade do efluente no que se refere a este parâmetro.

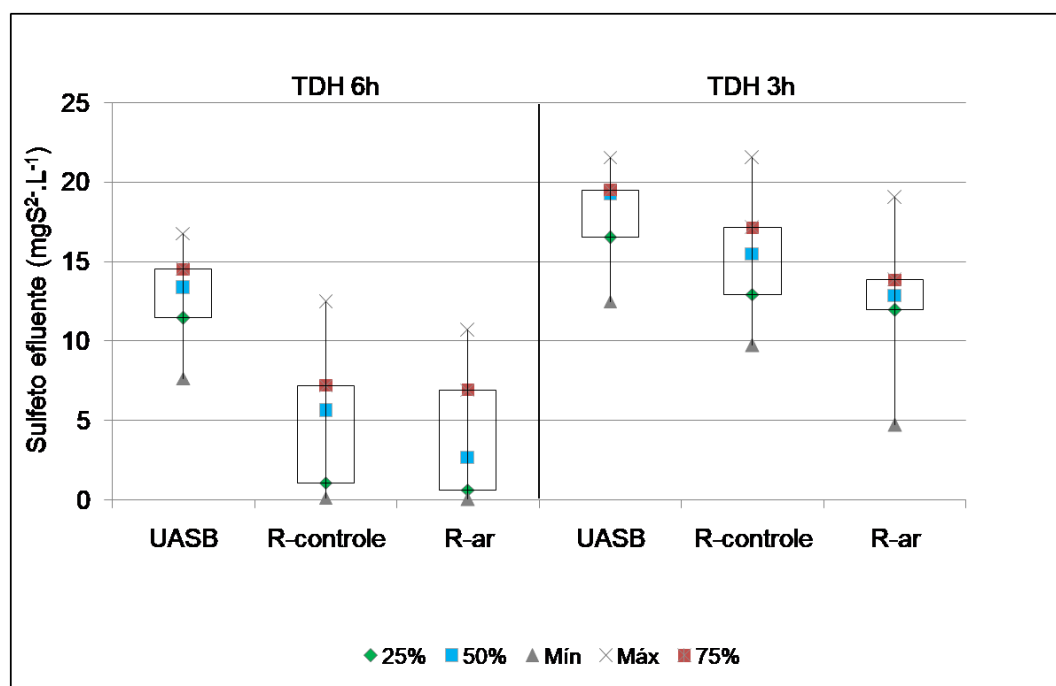


Figura 7.4 – Box-plot das concentrações medianas efluente de sulfeto no efluente do reator UASB, R-controle (sem microaeração) e R-ar (com microaeração) nas fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1

A carga de sulfeto aplicada nos biorreatores na fase 1 foi de $52\text{gS}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$ e na fase 2 foi de $152\text{gS}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$. A redução do TDH, e conseqüentemente o aumento da carga de sulfeto aplicada na fase 2, pode não ter permitido a transferência adequada do oxigênio para a fase líquida ou a quantidade de ar dosada não foi suficiente para promover a oxidação biológica do sulfeto. Como as cargas de sulfeto aplicadas nas duas fases da Etapa 1 foram muito discrepantes, avaliar a eficiência de remoção de sulfeto permite melhor análise do desempenho do sistema.

Na Figura 7.5 é possível observar que maiores eficiências foram alcançadas no R-ar em relação ao R-controle em ambas as fases, mas sem diferença significativa entre os biorreatores. No R-ar 79% e 33% do sulfeto foi removido e no R-controle 64% e 22% nas Fases 1 e 2, respectivamente.

Ao comparar as taxas de remoção de sulfeto nos biorreatores e fases, pode-se observar que menores taxas de remoção foram obtidas no R-controle (Fases 1 e 2) em conformidade com as eficiências de remoção (Figura 7.6). No entanto, no R-ar a taxa de remoção no TDH 6h foi de $40 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ($1,6 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) e no TDH 3h foi superior e igual $48 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ($2,0 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$). Mesmo com remoção inferior em relação à fase anterior, o R-ar na Fase 2 contribuiu para uma remoção superior em comparação ao controle. Os resultados apontam que a luz, juntamente com a microaeração, podem favorecer a oxidação do sulfeto no pós-tratamento. Contudo, vale ressaltar que embora a carga aplicada na Fase 2 tenha sido muito superior à anterior, a taxa de remoção foi similar nos TDHs 6h e 3h, o que pode ter sido ocasionado pela baixa concentração de oxigênio dissolvido ou a carga ter sido muito elevada para favorecer o metabolismo microbiano.

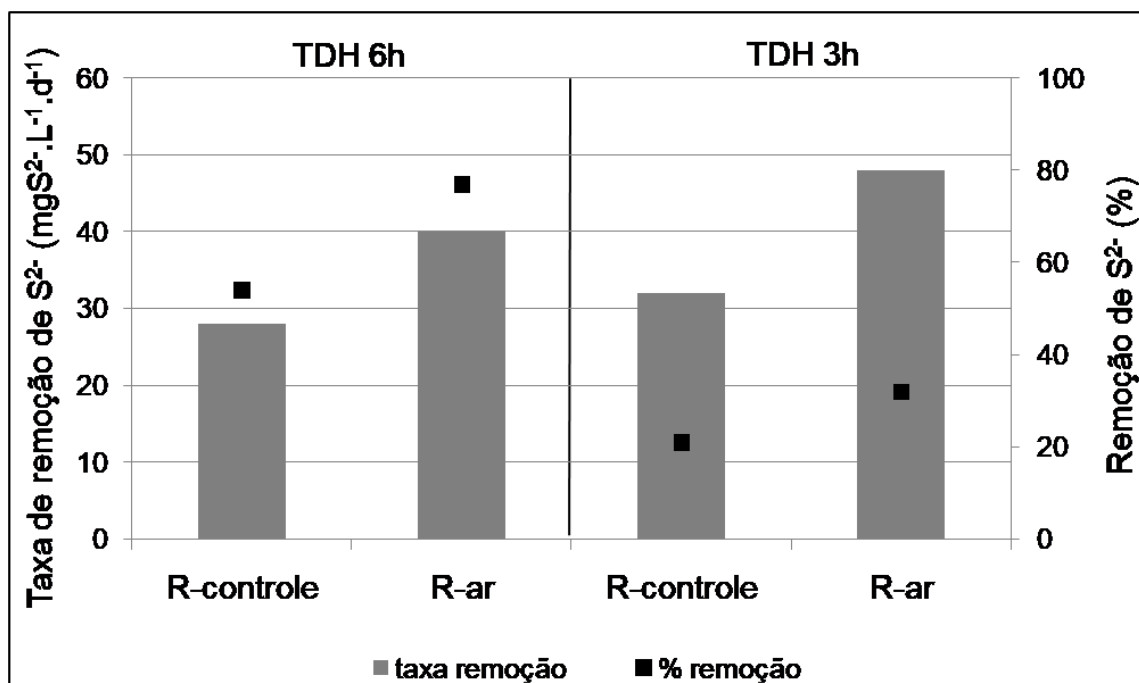


Figura 7.5 – Taxa e eficiência de remoção de sulfeto dissolvido nos biorreatores (R-controle: sem microaeração, R-ar: com microaeração) nas Fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1

Nota: Eficiência de remoção = mediana relativa 25 dados (Fase 1) e 11 dados (Fase 2).

Estudos anteriores utilizando o mesmo aparato experimental, porém sob condições distintas, apontaram resultados diferentes dos encontrados no presente trabalho. Azevedo *et al.* (2018) e Garcia *et al.* (2017) operaram os biorreatores com distintos tempos de detenção hidráulica (TDH) e ausência de oxigênio. Eficiências de remoção de sulfeto no biorreator com anéis de polipropileno/anaeróbico foram iguais a 92% (TDH 6h), 53% (TDH 4h) e 70% (TDH 2h)

(AZEVEDO *et al.*, 2018). Já Garcia *et al.* (2017) observaram 30% (TDH 24h), 90% (TDH 12h) e 52% (TDH 6h) no biorreator com anéis de polipropileno/anaeróbio.

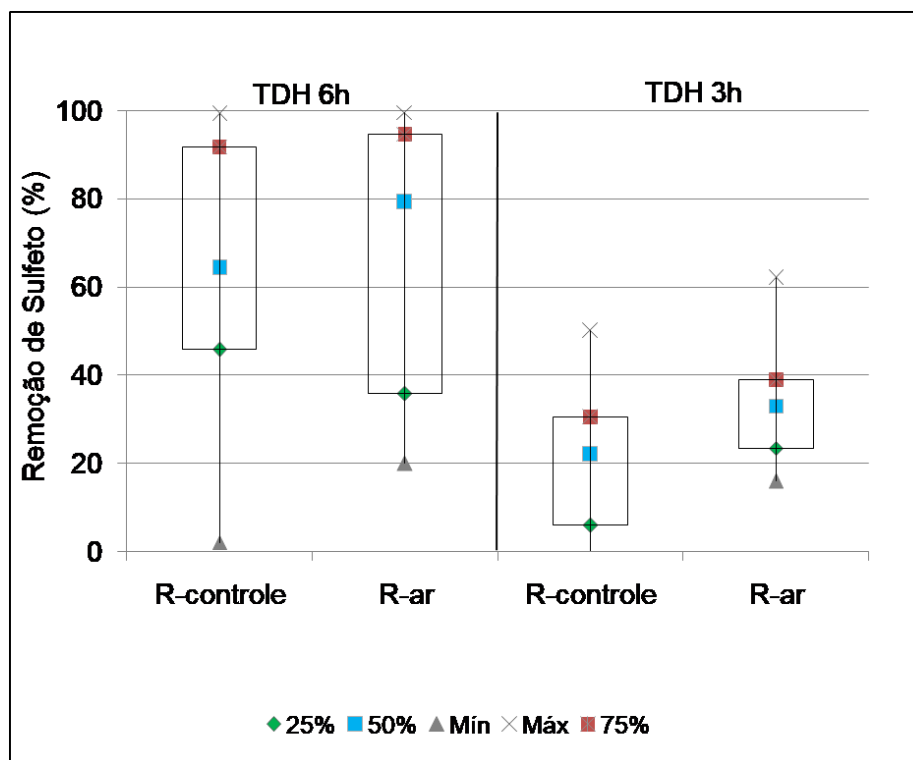


Figura 7.6 – Box-plot da eficiência de remoção de sulfeto dissolvido nos biorreatores (R-control: sem microaeração, R-ar: com microaeração) nas Fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1

Ao comparar a eficiência máxima obtida no presente estudo (79% no R-ar) com o estudo de Azevedo *et al.* (2018) a microaeração parece não ter sido suficiente para aprimorar a remoção de sulfeto no pós-tratamento. A carga de sulfeto medida pelos autores citados, com TDH 6h, foi de $22,0 \text{ gS.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, menos da metade obtida nesta pesquisa ($52,0 \text{ gS.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$) e pode ser o fator responsável pela menor eficiência do sistema de pós-tratamento. Ao comparar os resultados com os obtidos por Garcia *et al.* (2017), cuja carga foi $14,0 \text{ gS.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ com TDH 6h, pode-se inferir que a introdução do ar pode levar uma melhora na qualidade do efluente final, desde que avaliadas outras variáveis como a dinâmica de distribuição das bolhas de ar e a taxa de fluxo de ar, no que se refere a presença deste gás.

A eficiência de remoção de H_2S no R-ar (TDH 6h) foi similar ao obtido por Sousa *et al.* (2017). Os autores avaliaram a remoção de sulfeto em reator UASB microaerado tratando esgoto municipal, com TDH 12h e taxa de fluxo de ar de $25,8 \text{ L.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$. A eficiência de remoção de

sulfeto foi de 78% e do total de enxofre afluyente ao reator, 46% foi recuperado na forma de S^0 , representado por $4,6 \text{ mgS}^0 \cdot \text{L}^{-1}$.

Para avaliar a principal via de oxidação do sulfeto no pós-tratamento foram conduzidas análises da concentração de sulfato (SO_4^{2-}) e enxofre elementar (S^0). Algumas frações de enxofre não foram medidas, como a precipitada, adsorvida no lodo e biomassa e tiosulfato. Portanto, algumas diferenças no balanço podem ser decorrentes destes compostos. Ademais, apenas uma parte das amostras foi analisada até a conclusão deste trabalho.

As concentrações medianas de S^0 foram 3,4, 3,7 e $5,4 \text{ mgS}^0 \cdot \text{L}^{-1}$ na Fase 1 e 2,2, 4,2 e $4,9 \text{ mgS}^0 \cdot \text{L}^{-1}$ na Fase 2 no efluente de UASB, R-controle e R-ar, respectivamente. Não foi observada diferença significativa nas concentrações de S^0 afluyente e efluente aos biorreatores, bem como entre R-controle e R-ar. As concentrações medianas de SO_4^{2-} efluente do reator UASB foram iguais a 15,0 e $14,0 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ nas Fases 1 e 2, respectivamente. A redução do SO_4^{2-} no sistema anaeróbico em relação ao esgoto bruto ($29,0 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$) culminou com o aumento da concentração mediana de sulfeto no efluente do reator UASB, conforme anteriormente apresentado.

Para avaliar se o enxofre produzido no sistema ocorreu preferencialmente por via biológica ou química, utilizou-se o diagrama de Pourbaix ou diagrama pH-Eh (Figura 7.7) (RICKARD & LUTHER, 2007). Neste estão definidas as fases estáveis em um sistema a 25°C e pressão total igual a 1 bar e a avaliação é feita utilizando os dados obtidos de pH e pOR (aqui apresentados no item 7.1.2). Com base no diagrama de Pourbaix e nos resultados obtidos observa-se que as condições internas nos biorreatores foram favoráveis para a ocorrência da reação química de formação do SO_4^{2-} . Como a ocorrência de reação química para formação de S^0 não foi apontada pelo diagrama de Pourbaix, pode-se inferir que a mesma ocorreu por vias biológicas.

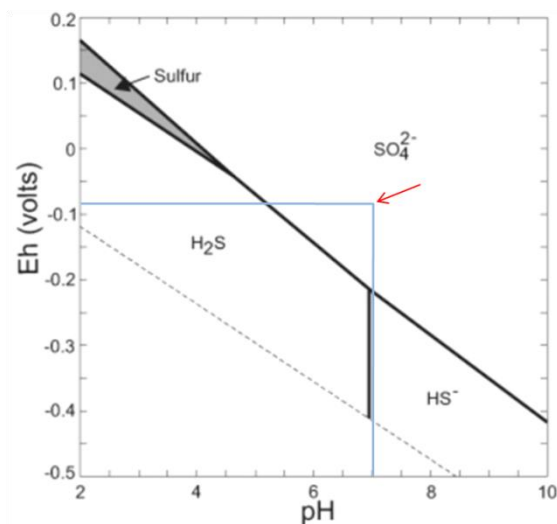


Figura 7.7– Diagrama de Pourbaix (pH-Eh) para espécies de enxofre estáveis em solução aquosa (25 °C, 1 bar total pressure) em relação ao pH e pOR

Nota: linhas azuis indicam valores de pH e potencial redox obtidos, e ponto de associação está indicado pela seta vermelha.

Fonte: RICKARD & LUTHER (2007).

As concentrações de sulfato medidas no presente trabalho foram superiores aos apresentados por Azevedo *et al.* (2018) que observaram concentração máxima de $9,6 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ e com maior proximidade aos obtidos por Garcia *et al.* (2015, 2017) (verificaram até $17,0 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$). Todos os trabalhos citados foram conduzidos com esgoto doméstico da mesma região de contribuição.

Na Fase 1 (TDH 6h), enquanto a concentração de sulfeto no efluente dos biorreatores diminuiu, foi observado um aumento na concentração de sulfato indicando a ocorrência da oxidação completa do sulfeto. Os valores obtidos foram $22,0 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ (R-controle) e $26,0 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ (R-ar) (Figura 7.8). A concentração mais elevada de sulfato no efluente do R-ar, em relação ao R-controle, indica que a introdução do ar favoreceu a oxidação completa do sulfeto. Na fase 2 (TDH 3h) a concentração de SO_4^{2-} no pós-tratamento não alterou consideravelmente (Figura 7.8). A redução do sulfato ocorreu no reator UASB, mas a atividade das bactérias redutoras de sulfato parece não ter sido considerável nos biorreatores possivelmente pelas condições internas e micro-organismos presentes conforme será discutido no tópico 7.2.

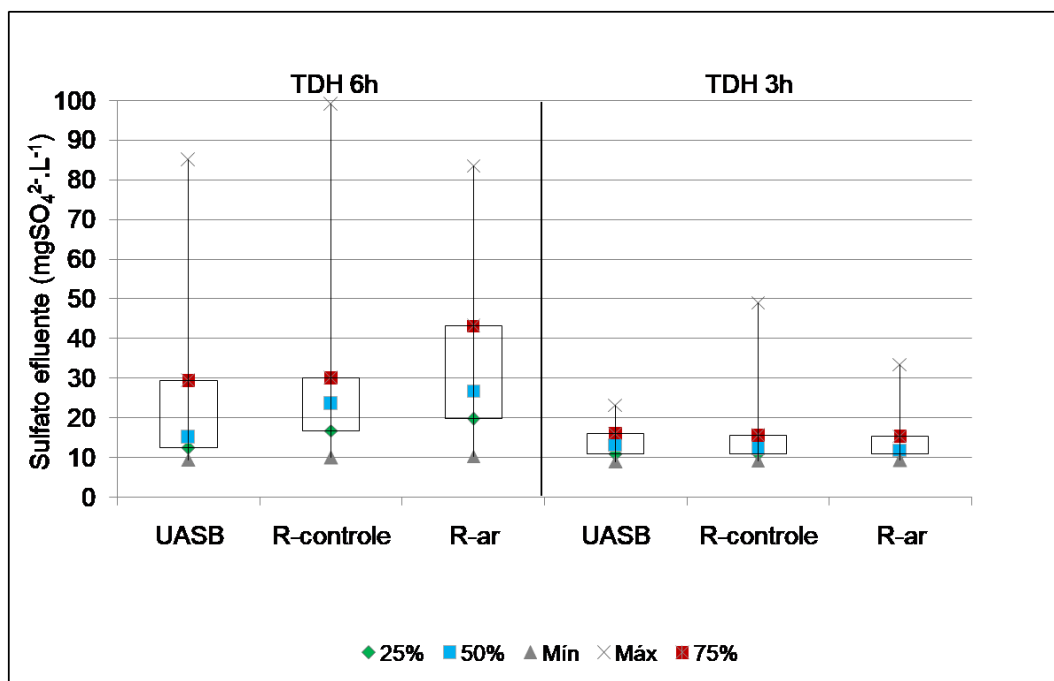


Figura 7.8 – Box-plot das concentrações medianas de sulfato no efluente do reator UASB, R-control (sem microaeração) e R-ar (com microaeração) nas Fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1

A distribuição das frações de enxofre medidas no efluente dos biorreatores a partir de todo enxofre afluente (proveniente do reator UASB) está apresentada na Figura 7.9. Os dados desta figura confirmam a maior produção de SO_4^{2-} em relação a todo enxofre afluente aos biorreatores, na Fase 1 em relação a Fase 2. Na Fase 1, de toda carga de enxofre proveniente do reator UASB, 23% e 28% foi convertido em SO_4^{2-} , 20% e 9% permaneceram como S^{2-} e 11% e 17% convertido a S^0 no R-control e R-ar, respectivamente. Na Fase 2 estas frações corresponderam a 12% e 11% de SO_4^{2-} , 44% e 38% de S^{2-} e 12% e 15% S^0 no R-control e R-ar, respectivamente.

Como o objetivo principal foi a remoção de sulfeto presente no efluente do reator UASB nos biorreatores e, sobretudo, sua oxidação parcial a S^0 , foram calculadas as razões entre $\text{S}^0_{\text{formado}}/\text{S}^{2-}_{\text{afuente}}$ e $\text{SO}_4^{2-}_{\text{formado}}/\text{S}^{2-}_{\text{afuente}}$ (Tabela 7.2). Embora a quantidade de S^0 produzido tenha sido menor que o SO_4^{2-} em todos os reatores e fases, nota-se através da razão supramencionada que mais S^0 foi formado no R-ar (TDH 6h) (Tabela 7.2). O S^0 é produzido com suprimento limitado de um agente oxidante ou alta concentração de sulfeto no meio, isto é, com razão molar da concentração de oxigênio e sulfeto mais baixa. Quando produzido por vias biológicas o S^0 tem caráter hidrofílico e pode ser separado da fase líquida (POKORNA & ZABRANSKA, 2015).

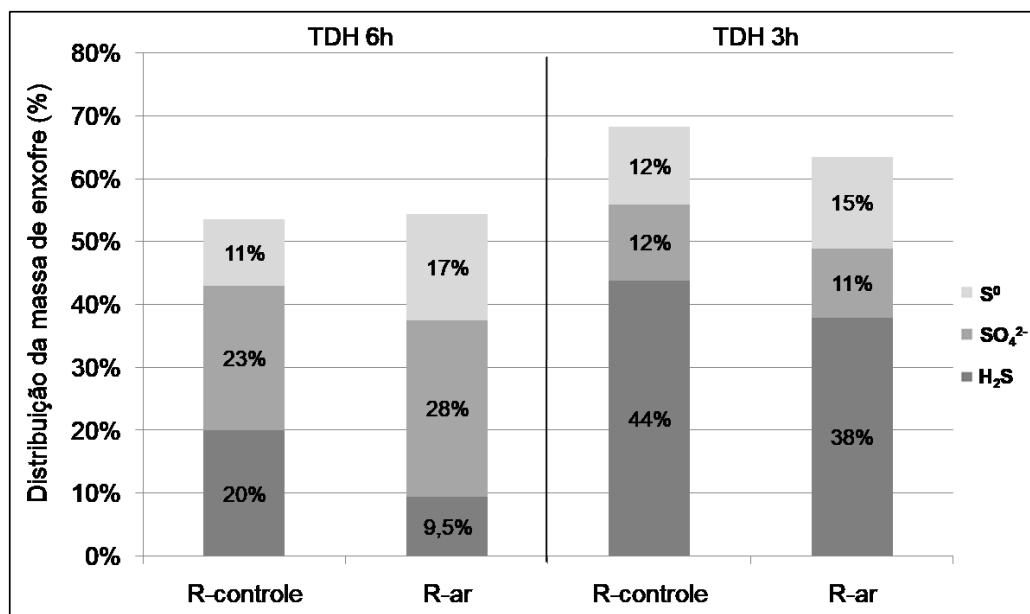


Figura 7.9 – Percentuais relativos às espécies de enxofre formadas nos biorreatores R-controle (sem microaeração) e R-ar (com microaeração) em relação às frações afluente, nas Fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1

Nota: o balanço de massa das espécies de enxofre efluente aos biorreatores em relação à soma da massa das frações de enxofre afluente.

Amostras do lodo e biomassa aderida aos anéis não foram analisadas quanto à presença de S⁰, por interrupção na execução das análises em decorrência da pandemia do covid-19, comprometendo de certa forma o balanço de enxofre proposto no sistema.

Tabela 7.2 – Carga de sulfeto, eficiência de remoção de sulfeto (mediana) e razão entre enxofre elementar e sulfato formados em relação ao sulfeto afluente.

Fases	Biorreator	Carga de sulfeto (gS ²⁻ m ⁻³ d ⁻¹)	Remoção de sulfeto (%)	S ⁰ formado/S ²⁻ afluente (%) ¹	SO ₄ ²⁻ formado/S ²⁻ afluente (%) ²
1-TDH 6h	R-controle	52	61	28	56
	R-ar		79	41	66
2- TDH 3h	R-controle	152	22	24	20
	R-ar		32	25	20

¹: razão entre a massa de S⁰ no efluente e de S²⁻ afluente. ²: razão entre a massa de S de SO₄²⁻ no efluente e de S²⁻ afluente.

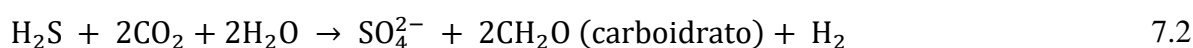
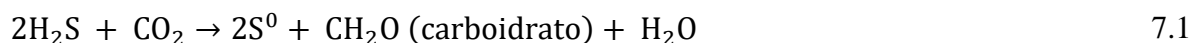
Muitos estudos da literatura apresentam balanço de massa de enxofre por fórmulas, ou seja, sem análise laboratorial de S⁰. Além disso, alguns estudos apontam a dificuldade de recuperação quando o enxofre elementar não está presente na fase líquida. Pelaz *et al.* (2017) observaram formação de S⁰ visualmente, sem análise físico-química e ressaltaram a impossibilidade de remoção, pois o mesmo estava aderido às paredes do reator.

Na presente pesquisa, como análises de S^0 no lodo e biomassa não foram realizadas não foi possível afirmar se a presença deste no efluente foi superior em relação às frações no lodo acumulado no fundo dos biorreatores e/ou na biomassa aderida nos anéis.

As diferenças observadas no balanço de enxofre podem estar relacionadas às frações não medidas. Discrepâncias em balanços de enxofre já foram relatadas por diversos autores (HURSE & KELLER, 2004), ou ainda balanços foram realizados com base em transformações teóricas dos compostos de enxofre (HUANG *et al.*, 2015). Diversos fatores podem ter interferido na formação do produto da oxidação do sulfeto no presente trabalho, como a taxa de transferência de oxigênio, a presença dos micro-organismos provenientes do reator UASB, a penetração da luz no interior dos biorreatores e a taxa de ar aplicada bem como a concentração de OD.

Com relação à intensidade de luz nos biorreatores, a curva de van Niel pode ser usada para interpretação dos resultados juntamente com as demais variáveis do sistema. Proposta por Cork *et al.* (1985), a curva indica a quantidade de energia luminosa necessária para oxidar uma dada concentração de sulfeto a S^0 , definida pela Equação 7.1.

Com maior intensidade luminosa e suficiente CO_2 , o S^0 acumula quando há excesso de sulfeto. Quando houver diminuição da quantidade de sulfeto, o mesmo pode ser completamente oxidado a SO_4^{2-} (Equação 7.2). O reator usado no estudo de Cork *et al.* (1985) foi um tanque cilíndrico com agitação de volume igual a 800 mL e cultura pura *Chlorobium limicola* (bactéria sulfurosa verde). Neste trabalho a luz (artificial) foi um fator limitante, pois o formato do biorreator permitiu a incidência apenas na superfície externa. A curva de van Niel muda com diferentes configurações de reatores, mas a forma permanece a mesma (LIN *et al.*, 2018). Estes autores destacaram a dificuldade na aplicação de fotobiorreatores em escala plena, principalmente para os tubulares, em que o aumento de escala seria muitas vezes inviável, e a dificuldade na recuperação do S^0 reportada por muitos autores.



O diâmetro dos biorreatores (35 centímetros) empregados na presente pesquisa e o preenchimento com meio suporte não permitiram a penetração da luz por toda extensão do corpo cilíndrico. Além disso, como foi luz natural, houve períodos sem luz (noturno) e com

variações na intensidade da mesma, de acordo com as condições climáticas. Durante as coletas, como os reatores eram abertos para inserção da sonda multiparamétrica, era possível observar que havia maior acúmulo de biomassa, principalmente de cor esverdeada e púrpura, nos anéis da periferia e entre o cesto inox e a parede acrílica, ou seja, onde a incidência da luz solar era superior. Uma quantidade muito menor de biomassa era observada nos anéis do centro dos biorreatores. Dessa forma, como a taxa de oxidação de sulfeto está sujeita ao crescimento de bactérias oxidadoras de enxofre fototróficas, que por sua vez dependem da irradiação incidente (LIN *et al.*, 2018), a luz e a carga de sulfeto podem ter sido fatores limitantes na oxidação do sulfeto e formação de S^0 .

Com dosagem controlada de oxigênio, bactérias oxidadoras de enxofre quimiolitotróficas são capazes de oxidar sulfeto a S^0 (TANG *et al.*, 2009). No entanto, na prática manter a relação oxigênio e sulfeto constante, sobretudo no tratamento de esgoto real, é difícil uma vez que a concentração de sulfeto muda com o tempo. Este grupo de oxidadoras de enxofre não foi detectado nos biorreatores conforme será apresentado no tópico 7.2.3.

Em relação ao oxigênio dissolvido, algumas concentrações e razões molares já foram apresentadas na literatura como sendo ideais para oxidação parcial do sulfeto. Sob condições limitadas de oxigênio, ou seja, oxigênio dissolvido em concentrações abaixo de $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$, S^0 é o principal produto da oxidação do sulfeto, enquanto o SO_4^{2-} é formado sob condições limitantes de sulfeto (JANSSEN *et al.*, 1995; HULSHOFF POL *et al.*, 1998).

Para a oxidação biológica, a avaliação dos micro-organismos (apresentada no tópico 7.2.3) confirma esta via de remoção de sulfeto e principais grupos detectados.

7.1.5 Monitoramento dos compostos nitrogenados

De acordo com a caracterização do esgoto bruto apresentada no tópico Materiais e Métodos, a concentração mediana de nitrogênio amoniacal foi de $33,0 \text{ mgNH}_3.\text{L}^{-1}$. No efluente do UASB as concentrações medianas de NH_3 foram $41,0$ e $40,5 \text{ mgNH}_3.\text{L}^{-1}$ nas Fases 1 e 2, respectivamente, sem diferença estatística entre elas (Figura 7.10). Concentrações similares de nitrogênio amoniacal em efluente de reator UASB tratando esgoto doméstico foram observadas por Pantoja-Fiho *et al.* (2014) com valores entre $32,1$ e $35,6 \text{ mg NH}_3.\text{L}^{-1}$. Santos *et al.* (2018) aplicaram efluente sintético em reator anaeróbio com elevadas concentrações (de $71,5$ a $144,0 \text{ mg NH}_3.\text{L}^{-1}$) e observaram que após tratamento, as concentrações efluentes ainda foram altas

(de 64,8 a 132,6 mg $\text{NH}_3\cdot\text{L}^{-1}$). Como esperado para tratamento anaeróbico, a remoção de nitrogênio amoniacal não ocorre quando tais tecnologias são usadas para tratamento de esgotos.

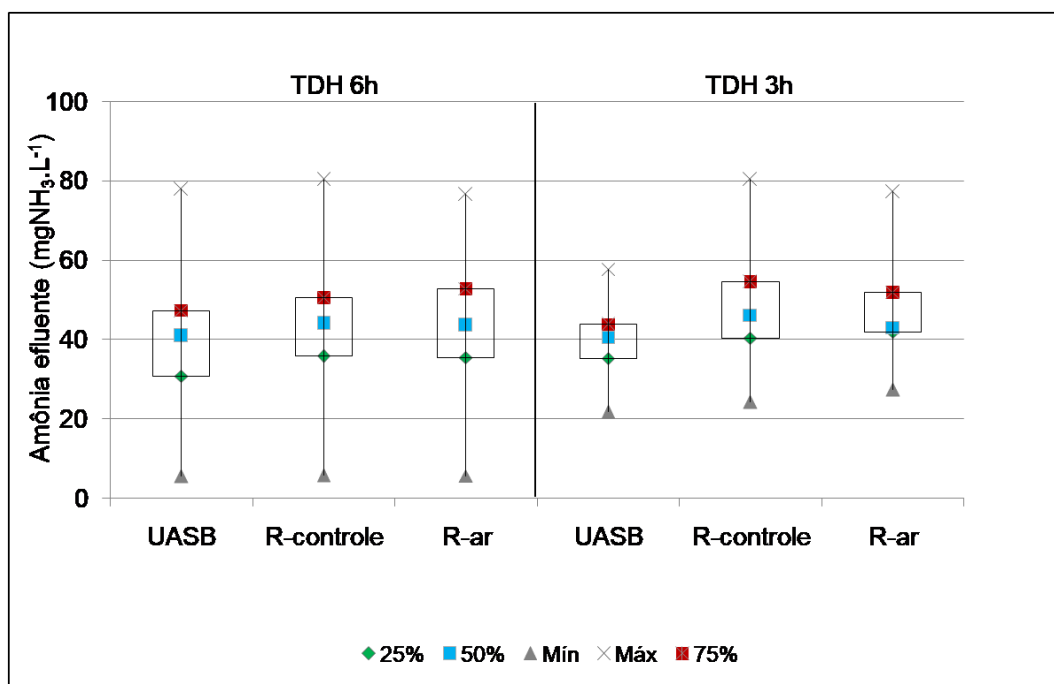


Figura 7.10 – Concentrações medianas de nitrogênio amoniacal no efluente do reator UASB, R-controle (sem microaeração) e R-ar (com microaeração) nas Fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1

No pós-tratamento, as concentrações medianas efluente aos biorreatores foram 44,0 e 46,0 mg $\text{NH}_3\cdot\text{L}^{-1}$ no R-controle e 44,0 e 43,0 mg $\text{NH}_3\cdot\text{L}^{-1}$ no R-ar nas Fases 1 e 2, respectivamente. Os resultados indicam que ocorreu amonificação no reator UASB e no pós-tratamento, em ambas as fases (TDHs 6h e 3h) (Figura 7.10).

A ausência de nitrificação nos biorreatores do presente estudo pode estar associada à baixa disponibilidade de oxigênio para as bactérias do ciclo do nitrogênio (em especial às oxidadoras de amônia) e/ou pela ausência de micro-organismos desse ciclo, uma vez que não foi realizada inoculação e os micro-organismos presentes nos biorreatores são provenientes do reator UASB. Vale destacar que em se tratando de tratamento biológico a competição entre os micro-organismos, de acordo com as condições internas nos biorreatores, determina a principal via de remoção de contaminantes. Em relação aos três elementos estudados, a baixa disponibilidade de oxigênio, proveniente da microaeração, e a energia livre de Gibbs (ΔG°) liberada nas reações de oxidação do metano, sulfeto e nitrogênio amoniacal determinaram a eficiência do sistema. Conforme apresentado na revisão da literatura do presente documento (Tabela 2.6) uma energia livre de Gibbs superior a -700 kJ pode ser liberada na oxidação do metano e sulfeto, em

contrapartida na oxidação da amônia aproximadamente -270 kJ de energia é liberada. Com isso, a pequena quantidade de oxigênio adicionada no R-ar foi usada primordialmente para oxidação do metano e sulfeto, ficando a oxidação da amônia desfavorecida no interior dos biorreatores. Dessa forma, na ausência dos íons nitrito e nitrato, não seria possível a ocorrência de desnitrificação autotrófica acoplada à oxidação do sulfeto, tampouco com metano como doador de elétrons.

Azevedo (2017) também não observou oxidação da amônia usando mesmo aparato experimental em condições anaeróbias sem inoculação. Nesta pesquisa as concentrações medianas de amônia efluente ao reator UASB foram $51,9 \text{ mgNH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ e no pós-tratamento $50,1 \text{ mgNH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$. Zheng *et al.* (2012) avaliaram a remoção de amônia em reator UASB microaerado ($0,3$ a $0,5 \text{ mgOD} \cdot \text{L}^{-1}$) com efluente sintético e inoculação de lodo ativado, previamente inserido em coluna aerada com o efluente e incubado por 12h a 30°C . Mesmo com a inoculação a remoção de nitrogênio amoniacal foi baixa (24%) quando comparada a maiores concentrações de OD (de $0,7$ a $0,9 \text{ mgOD} \cdot \text{L}^{-1}$) com eficiência superior a 90% remoção. Santos *et al.* (2018) obtiveram oxidação quase completa da amônia a nitrito, com oxigênio dissolvido igual a $2,86 \text{ mgOD} \cdot \text{L}^{-1}$, em sistema composto por reator de leito estruturado com recirculação para pós-tratamento de efluente anaeróbio sintético.

De fato, além da provável ausência de micro-organismos nitrificantes no reator UASB e, portanto, no efluente que alimentou os biorreatores, a concentração de oxigênio dissolvido foi possivelmente muito baixa para propiciar tais grupos. As concentrações medianas de OD nas Fases 1 e 2 foram muito inferiores as reportadas na literatura como eficientes para a nitrificação e iguais a $0,34$ e $0,23 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de OD, respectivamente.

7.1.6 Monitoramento da matéria orgânica

A avaliação do desempenho do sistema na remoção de matéria orgânica para a Etapa 1 está apresentada na Figura 7.11. Com base nas concentrações medianas apresentadas pode-se observar que o reator UASB reduziu a demanda química de oxigênio (DQO) de $324,0 \text{ mgDQO}_T \cdot \text{L}^{-1}$ do esgoto bruto para $124,0 \text{ mgDQO}_T \cdot \text{L}^{-1}$, representando uma redução de 62%. Maior remoção de DQO_T foi observada na Fase 2 (TDH 3h) com concentração efluente ao reator UASB igual a $94 \text{ mgDQO}_T \cdot \text{L}^{-1}$, representando uma eficiência de remoção de 71%. Similarmente concentração mediana de DQO na faixa de 85 a $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ em efluente de reator UASB tratando esgoto doméstico foi observado por Silva *et al.* (2018), mesmo quando grandes variações na concentração afluyente foram testadas. Valores de eficiência de remoção de DQO

entre 60 a 80% podem ser alcançados quando sistemas de tratamento anaeróbio são aplicados em temperaturas entre 20 e 25°C e taxa de carga orgânica de aproximadamente 2 a 3 kg DQO.m⁻³.d⁻¹ (SILVA-TEIRA *et al.*, 2017). Estes autores observaram remoção de DQO superior, igual a 84%, em reator UASB tratando efluente sintético a 21°C e TDH entre 10h e 12h. A diferença na eficiência de remoção de DQO entre o presente estudo e o supracitado pode estar relacionada ao tipo de efluente, bem como pelo maior TDH usado por aqueles autores.

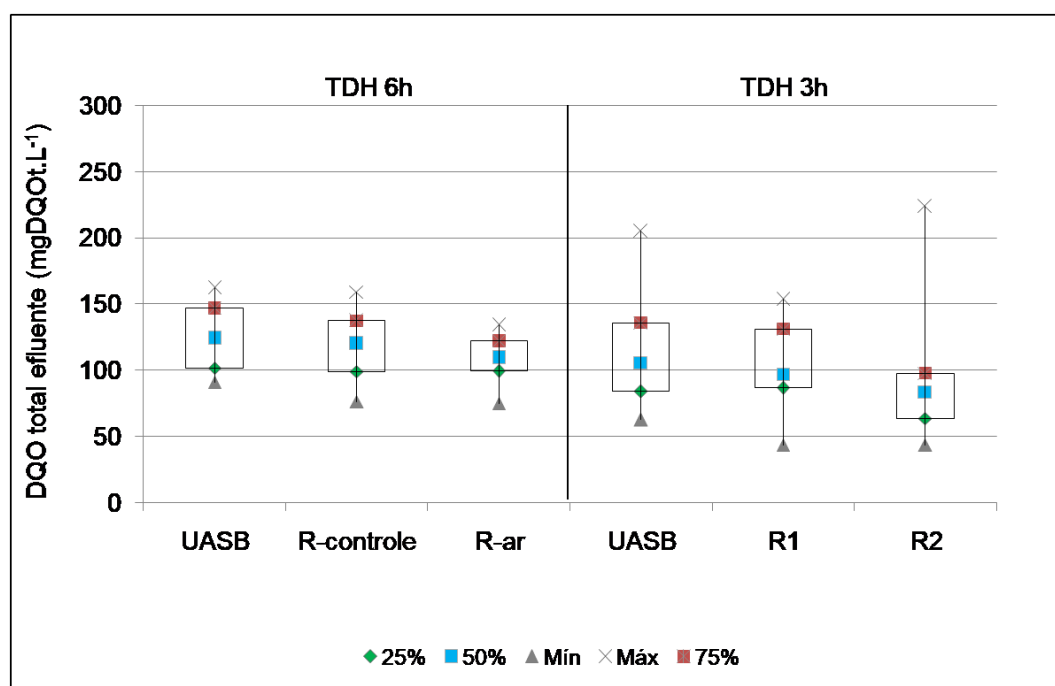


Figura 7.11 – Concentração de DQO total no efluente do reator UASB e biorreatores (R-controle: sem microaeração, R-ar: com microaeração), nas Fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1

Os biorreatores aplicados nesta pesquisa para pós-tratamento de efluente de reator UASB possibilitaram a redução da concentração de matéria orgânica, contudo, os valores não foram expressivos. A concentração mediana efluente foi de 120,0 mgDQO.T.L⁻¹ e 110,0 mgDQO.T.L⁻¹, para R-controle e R-ar, respectivamente, na Fase 1 e 97,0 mgDQO.T.L⁻¹ e 85,0 mgDQO.T.L⁻¹ para R-controle e R-ar, respectivamente, na Fase 2 (Figura 7.11). Estas concentrações estiveram de acordo com o observado por Azevedo *et al.* (2018) que relataram concentração mediana igual a 91,5 mgDQO.L⁻¹ em biorreator anaeróbio exposto a luz solar em TDH de 6h, tratando efluente proveniente de reator UASB alimentado com esgoto doméstico.

Embora a remoção no pós-tratamento não tenha sido elevada, as concentrações de DQO medidas em todas as amostras (efluente do reator UASB e dos biorreatores) estiveram abaixo

do limite de 180,0 mgDQO_T.L⁻¹, estabelecido pela Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH n°01/2008, do estado de Minas Gerais.

Os dados obtidos apontam ainda que a variação do TDH não afetou significativamente a remoção de DQO. Maior eficiência de remoção de DQO residual foi obtida no biorreator microaerado em ambas as fases, contudo não houve diferença significativa em relação ao R-controle. Este resultado e os dados da literatura apontam que a microaeração não afeta a eficiência de remoção de DQO (CAMILOTI *et al.*, 2018; KRAYZELOVA *et al.*, 2014).

7.1.7 Monitoramento dos sólidos suspensos

Análises de sólidos (suspensos totais, fixos e voláteis) foram realizadas para as amostras afluente e efluente aos biorreatores. A partir da Figura 7.12 nota-se uma redução da concentração de SST nos biorreatores em relação ao efluente do reator UASB com valores iguais a 25,0, 16,0 e 18,0 mgSST.L⁻¹ na Fase 1 e 75,0, 27,0 e 27,0 mgSST.L⁻¹ na Fase 2 para efluente do reator UASB, R-controle e R-ar, respectivamente. As concentrações medidas em todas as amostras estiveram abaixo do limite de 100,0 mg.L⁻¹ estabelecido pela Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH n° 01/2008 do estado de Minas Gerais.

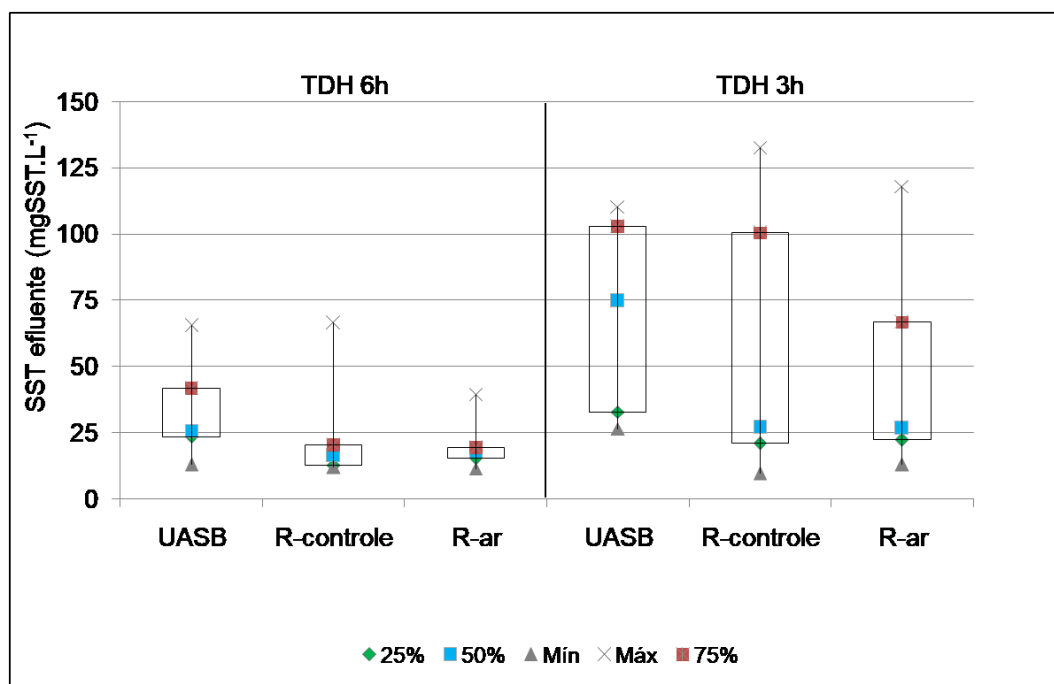


Figura 7.12 – Box-plot das concentrações medianas de SST no efluente do reator UASB, R-controle (sem microaeração) e R-ar (com microaeração) nas Fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1

As eficiências de remoção de sólidos suspensos totais (Figura 7.13) entre os biorreatores não foram significativamente diferentes. Os dados obtidos para SST no pós-tratamento apontam que as bolhas de ar geradas pela microaeração não causaram maior desprendimento de sólidos no R-ar, quando comparado ao R-controle.

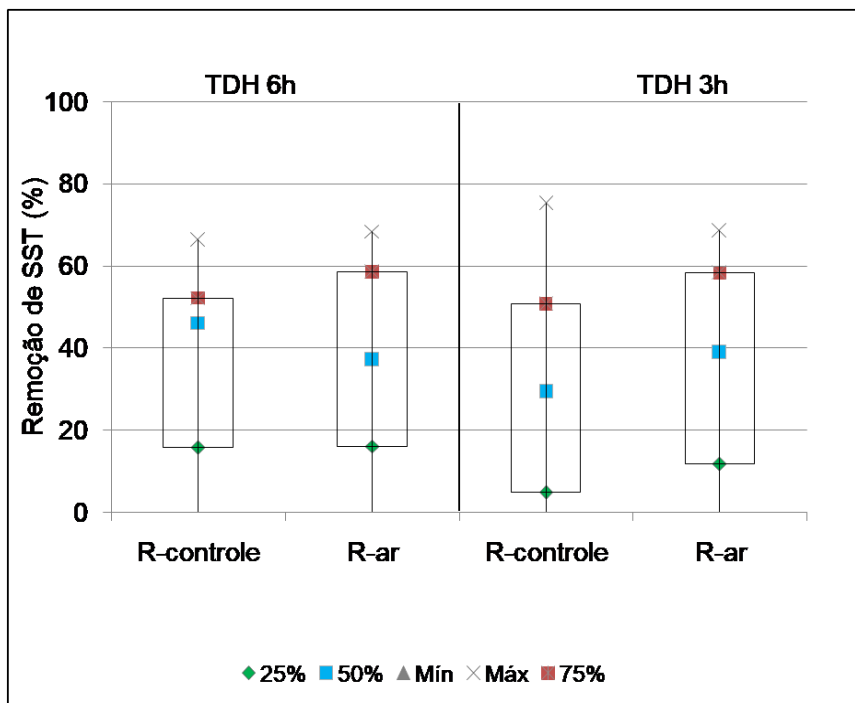


Figura 7.13 – Box-plot da eficiência de remoção de SST nos biorreatores (R-controle: sem microaeração, R-ar: com microaeração) nas Fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1

7.2 Análise da diversidade microbiana pela técnica de seqüenciamento de nova geração (SNG)

Os resultados apresentados neste item se referem ao objetivo específico 3 e estão apresentados antes dos resultados referentes ao objetivo específico 2, pois o SNG foi realizado apenas para amostras coletadas na Etapa 1. Dessa forma, considerou-se que apresentá-los em sequência aos resultados físico-químicos melhoraria a compreensão dos mesmos.

Ao final de cada fase (Fase 1 – TDH 6h e Fase 2 – TDH 3h) da etapa de microaeração contínua (Etapa 1) amostras da biomassa aderida nos anéis de polipropileno, usados como meio suporte, e do lodo acumulado na porção cônica dos biorreatores, foram coletadas para análise da diversidade da comunidade microbiana. Para isso foi utilizada a técnica de seqüenciamento de nova geração (SNG) por meio da plataforma IlluminaMiSeq.

Cabe ressaltar que além das condições operacionais distintas entre R-controle e R-ar durante a operação deles ocorreram problemas técnicos, tais como rompimento de mangueiras e, logo,

interrupção na alimentação, esvaziamento parcial ou total de biorreatores, dentre outros. Essas situações adversas podem ter contribuído também para variações nos grupos detectados em cada biorreator.

Foram obtidas de 68.006 a 102.583 sequências no reator controle (R-controle, abreviado nas tabelas e figuras como R-c) e de 64.306 a 89.255 no reator microaerado (R-ar) nas duas fases de estudo (Tabela 7.3). A abundância (número de *reads*) e riqueza (número de OTUs) variaram entre as amostras dos biorreatores e fases (Tabela 7.3).

De todas as amostras analisadas e nas duas fases, foi observada menor diversidade no R-controle nos anéis (410,4 pelo índice *Chao 1* e 365,9 pelo *Shannon*) e maior diversidade neste mesmo biorreator nas amostras do lodo (913,5 pelo *Chao 1* e 721,5 pelo *Shannon*) na Fase 2 (Tabela 7.3). Na Fase 1 (TDH 6h) maior diversidade foi observada nas amostras do lodo (acumulado na porção cônica dos reatores) de ambos os reatores quando comparado às amostras dos anéis pelos índices *Chao 1* e *Shannon*. Entre os biorreatores, a diversidade foi superior no R-ar em relação ao R-controle de acordo com os índices supracitados, com exceção na amostra do lodo que foi inferior no R-ar pelo índice *Shannon*.

O número de UTOs (Unidades taxonômicas operacionais, do inglês, *Operational taxonomic unit*) de todas as amostras avaliadas esteve próximo ao índice *Chao1*, indicando que o sequenciamento recuperou quase toda a diversidade de táxons das amostras (Tabela 7.3).

Tabela 7.3 – Número de sequências, UTOs e índices de diversidade *Simpson*, *Chao1* e *Shannon* calculados para os biorreatores (R-c e R-ar) de amostras da biomassa aderida nos anéis e do lodo, nas duas fases (TDH 6h e 3h)

	Fase 1 (TDH 6h)				Fase 2 (TDH 3h)			
	Anéis		Lodo		Anéis		Lodo	
	R-c*	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar
N° de sequências lidas	75.771	70.937	68.006	84.788	102.583	64.306	78.060	89.255
N° de UTOs	436	499	612	685	407	826	904	434
Chao1	436,1	499,2	615,7	687,1	410,4	831,8	913,5	441,5
Shannon	541,1	578,9	625,9	584,2	365,9	720,6	721,5	469,3
Simpson	0,9223	0,9425	0,9520	0,8871	0,7172	0,9766	0,9767	0,8911

*R-c: R-controle

A seguir estão apresentados os resultados em nível de filo com abundância igual ou superior a 1%. Posteriormente, resultados em nível de gênero separado para cada elemento estudado, metano através do ciclo do carbono, enxofre e nitrogênio. Foram priorizados os gêneros com abundância superior a 0,5%. Contudo, alguns grupos de relevância para os ciclos dos elementos supramencionados, que foram detectados em menor abundância, foram também apresentados no texto.

7.2.1 Diversidade em nível de filo

A diversidade de filios com abundância igual ou superior a 1% em pelo menos uma amostra está apresentada na Figura 7.14, totalizando 12 filios. Os valores da abundância relativa destes filios podem ser consultados na Tabela A.1 do Apêndice. Destes 12 filios *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Euryarchaeota* (domínio Archaea), *Firmicutes* e *Proteobacteria* foram os mais abundantes e representaram juntos de 81% a 95% de todos os filios detectados em todas as amostras. Na Tabela 7.4 está apresentada a abundância relativa destes cinco filios em cada amostra dos biorreatores e fases. Todos os filios com abundância igual ou superior a 0,5% estão apresentados na Tabela A.2 do Apêndice.

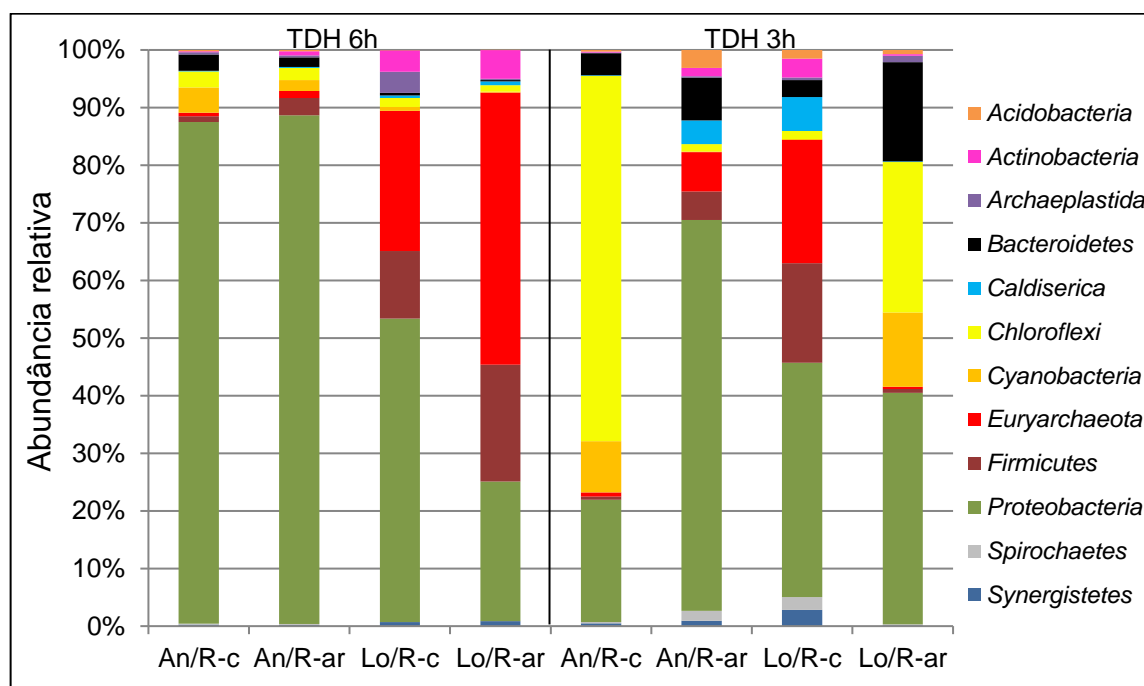


Figura 7.14 – Abundância relativa dos principais filios (>1%) detectados nas amostras estudadas.

Nota: An (anéis de polipropileno); Lo (lodo); R-c (reator controle); R-ar (reator microaerado).

Com base na distribuição dos filos, apresentada na Figura 7.14, observa-se que no TDH 6h (Fase 1) a comunidade microbiana diferiu entre as amostras da biomassa dos anéis e do lodo dos biorreatores, notadamente a abundância de *Proteobacteria* foi superior nos anéis e *Euryarchaeota* foi maior no lodo. Entretanto, a mesma figura aponta que a microaeração não alterou consideravelmente a diversidade dos micro-organismos, quando comparado ao R-controle nesta fase. Do contrário, na Fase 2 (TDH 3h) houve uma diferença na diversidade de micro-organismos entre a biomassa dos anéis e do lodo, bem como entre R-controle (reator controle) e R-ar (reator microaerado).

Na Fase 1 (TDH 6h) os filos *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Euryarchaeota*, *Firmicutes* e *Proteobacteria* representaram de 90% a 95% do total das amostras de ambos os reatores (R-controle e R-ar), com maior abundância do filo *Proteobacteria*, com exceção do lodo do R-ar em que maior abundância de *Euryarchaeota* foi detectada (Tabela 7.4). O filo *Proteobacteria* compreende indivíduos com uma enorme diversidade metabólica, fisiológica e morfológica e de grande importância para o ciclo global do carbono, nitrogênio e enxofre (SPAIN *et al.*, 2009). *Euryarchaeota* é representado por arqueias metanogênicas, halófilas extremas e termoacidófilas (BROCHIER-ARMANET *et al.*, 2008 *apud* GARCIA *et al.*, 2017), e compreende arqueias anaeróbias metanotróficas (ANME, do inglês, *Anaerobic Methane-Oxidizing Archaea*).

Amostras do lodo da Fase 1 tiveram elevada abundância também do filo *Firmicutes*. Este filo contém bactérias capazes de utilizar diversos substratos orgânicos, com capacidade hidrolítica e fermentativa, bem como bactérias sintróficas que podem degradar ácidos graxos voláteis produzindo hidrogênio, que é degradado por metanogênicas hidrogenotróficas (RIVIERE *et al.*, 2009). Membros deste filo estão divididos em *Clostridia* (anaeróbios), *Bacilli* (aeróbios facultativos ou obrigatórios) e *Mollicutes* (WOLF *et al.*, 2004). Além disso, o filo *Firmicutes* possui membros capazes de realizar desnitrificação heterotrófica (XU *et al.*, 2017).

A redução do TDH para 3h (Fase 2) alterou a distribuição dos grupos microbianos conforme apresentado na Figura 7.14 e Tabela 7.4. Nesta fase, os cinco filos mais abundantes representaram 81% a 89% do total das amostras. Além do *Proteobacteria* destaca-se a elevada abundância de *Chloroflexi* nas amostras dos anéis do R-controle. O filo *Chloroflexi* possui membros filamentosos fototróficos oxidadores de sulfeto ou bactérias verdes não sulfurosas (FERNANDÉZ *et al.*, 2008; DAHL, 2017) e já foi identificado em biorreatores expostos a luz solar removendo sulfeto de efluente de reator UASB tratando esgoto doméstico (GARCIA *et*

al., 2017), em reatores DHS removendo metano, amônia e sulfeto (HATAMOTO *et al.*, 2011) e é comumente detectado em reatores com atividade anammox (PEREIRA *et al.*, 2017). Nota-se ainda que ocorreu uma redução na abundância de micro-organismos dos filos *Euryarchaeota* e *Firmicutes*, sobretudo nas amostras dos anéis do R-controle e lodo do R-ar. A redução destes filos pode estar relacionada à maior abundância de *Cyanobacteria* nessas amostras (Figura 7.14 e Tabela A.1 do Apêndice) e, conseqüentemente, inibição pela presença do oxigênio.

Na tabela 7.4 estão apresentadas as abundâncias relativas dos cinco filos mais abundantes nas amostras dos anéis de polipropileno e lodo, dos biorreatores, nas duas fases (Fase 1 – TDH 6h e Fase 2 – TDH 3h).

Tabela 7.4 – Abundância relativa (%) dos cinco principais filos observados nas amostras dos reatores (R-c e R-ar), nas Fases 1 (TDH de 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1

	Fase 1 (TDH 6h)				Fase 2 (TDH 3h)			
	Anéis		Lodo		Anéis		Lodo	
	R-c*	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar
<i>Bacteroidetes</i>	3	2	0	0	4	7	3	17
<i>Chloroflexi</i>	3	2	2	1	63	1	1	26
<i>Euryarchaeota</i>	1	1	24	46	1	6	21	0
<i>Firmicutes</i>	1	3	12	20	1	5	17	1
<i>Proteobacteria</i>	86	87	52	24	21	64	39	40
Total (%)	94	95	90	91	90	83	81	84

*R-c: R-controle

Yang *et al.* (2018) submeteram uma cultura mista de bactérias fotossintéticas a diferentes condições de luz (natural e artificial) e com e sem oxigênio em biorreator de membrana com efluente sintético. Os autores observaram maior diversidade de filos quando houve luz artificial/anaeróbio em relação à luz natural/microaeróbio (0,5 a 1,0 mgOD.L⁻¹). Nesta condição os filos predominantes foram *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* e *Firmicutes*. Garcia *et al.* (2017) usaram o mesmo aparato experimental da presente pesquisa para avaliar a remoção do sulfeto de efluente de reator UASB. As análises de pirosequenciamento empregadas indicaram maior abundância dos filos *Synergistetes*, *Proteobacteria*, seguidos por *Firmicutes*. As diferenças nas abundâncias dos filos detectados podem estar relacionadas à ausência de ar e maiores TDHs (24 e 12h) da pesquisa realizada por aqueles autores.

Os micro-organismos pertencentes às classes *Beta* e *Gamma* de *Proteobacteria* e *Bacteroidetes* foram dominantes em reator DHS removendo sulfeto, metano e amônia de efluente de reator

anaeróbio (HATAMOTO *et al.*, 2011). Xu *et al.* (2017) avaliaram a distribuição de filos em reator microaerado e anaeróbio, acrescido de meio sintético com sulfato e nitrato objetivando a co-redução destes. No reator microaerado houve predomínio de *Proteobacteria* (54,57%) (especialmente *Gammaproteobacteria* e *Betaproteobacteria*); no reator anaeróbio os grupos mais abundantes foram *Synergistetes* (12,25%), *Bacteroidetes* (14,65%), *Chloroflexi* (7,84%) e *Firmicutes* (15,17%). Chen *et al.* (2017) detectaram filos similares em reator para co-redução de nitrato e sulfato, com predomínio de *Proteobacteria*, *Spirochaetae*, *Firmicutes*, *Synergistetes* e *Chloroflexi*, perfazendo 83,5 a 92,8% do total de amostras, porém em anaerobiose. Os grupos detectados se assemelham aos do presente estudo, exceto pela abundância relativa, diferença esta que pode estar relacionada a fatores como inoculação e tipo de efluente (sintético ou real).

A predominância de *Proteobacteria* em processo de co-redução de sulfato e nitrato em diversos estudos foi segundo Xu *et al.* (2017) indicativo que o grupo desempenha papel importante no consórcio microbiano, independente da configuração do reator, inóculo e outros parâmetros operacionais. No presente estudo, este filo foi encontrado em maior abundância em todas as amostras com exceção apenas do R-controle na Fase 2, porém este processo não ocorreu nos biorreatores, uma vez que não houve nitrificação no pós-tratamento.

7.2.2 Micro-organismos envolvidos no ciclo do carbono

7.2.2.1 Micro-organismos envolvidos nas rotas do metano

Metanotróficas aeróbias ocorrem em ecossistemas terrestre, aquático e marinho, tipicamente na interface óxica/anóxica, onde o oxigênio está disponível como acceptor de elétrons e o metano como fonte de carbono e energia, o qual é liberado como produto final da degradação da matéria orgânica (KNIEF, 2015).

Dos dois filos que englobam bactérias metanotróficas aeróbias (*Proteobacteria* e *Verrucomicrobia*), foram detectados apenas grupos do filo *Proteobacteria*.

Metanotróficas aeróbias dos gêneros *Methylococcus* (ordem *Methylococcales*) e *Methylocystis* (ordem *Rhizobiales*) foram detectadas em pelo menos uma das amostras. Como a abundância de *Methylococcus* não alcançou 1% em nenhuma amostra, mas é um grupo de importância na oxidação do metano, a presença do mesmo foi considerada na apresentação e discussão dos resultados. As abundâncias destes gêneros nas amostras analisadas da biomassa aderida aos anéis de polipropileno e no lodo acumulado na porção cônica dos reatores (R-controle e R-ar),

nas Fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) estão apresentadas na Tabela 7.5. Bactérias do gênero *Methylocaldum* foram detectadas em abundância inferior a 0,1% (0,07%), sendo observada somente na amostra do lodo do R-controle no TDH 6h.

Diferenças nas abundâncias dos gêneros com a condição avaliada (com e sem microaeração) foram observadas; embora bactérias metanotróficas fossem detectadas em todas as condições. A abundância de bactérias do gênero *Methylococcus* foi superior na ausência da microaeração, enquanto *Methylocystis* na presença da microaeração. Este resultado sugere que o ar introduzido pode ter selecionado os micro-organismos envolvidos na oxidação do metano e provenientes do reator UASB.

Tabela 7.5 – Abundância relativa (%) dos gêneros de metanotróficas observados nas amostras dos reatores R-controle (R-c) e R-ar, nas Fases 1 (TDH de 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1

Gêneros	Fase 1 (TDH 6h)				Fase 2 (TDH 3h)			
	Anéis		Lodo		Anéis		Lodo	
	R-c*	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar
<i>Methylococcus</i>	0,49	0,13	0,00	0,00	0,33	0,00	0,00	0,02
<i>Methylocystis</i>	0,71	2,06	0,64	0,14	0,09	0,20	0,14	0,03
Total (%)	1,2	2,19	0,71**	0,14	0,42	0,20	0,14	0,05

*R-c: R-controle; ** soma inclui a abundância do gênero *Methylocaldum* detectado na amostra.

Maior abundância relativa de bactérias do gênero *Methylococcus* foi observada nos anéis R-controle em ambas as fases. Este resultado sugere que este grupo pode ter contribuído para a remoção do metano neste reator, cuja eficiência que foi igual a 30%.

O gênero *Methylococcus* faz parte da classe *Gammaproteobacteria*, família *Methylococcaceae*, um grupo com ampla diversidade e distribuição no ambiente. Algumas cepas apresentam crescimento ótimo a 45°C, por exemplo, *Methylococcus capsulatus*. Por expressarem a enzima nitrogenase, bactérias *Methylococcus* possuem a habilidade de fixar nitrogênio (SEMRAU *et al.*, 2010).

A abundância de *Methylocystis* na biomassa dos anéis foi superior no R-ar em relação ao R-controle, em ambos os TDHs. Em contrapartida, nas amostras do lodo este mesmo grupo esteve em menor abundância no reator microaerado em relação ao controle. De todas as amostras analisadas, a maior abundância de bactéria metanotrófica foi observada no R-ar e TDH 6h,

condizendo com remoção de metano significativamente superior de todo período analisado (55%).

O gênero *Methylocystis* pertencente à classe *Alphaproteobacteria*, família *Methylocystaceae*, apresenta metanotróficas acidofílicas, que podem crescer tanto na presença do metano quanto do acetato, facultativas, acidófilas ou mesófilas e são encontrados em muitos ambientes (SEMRAU *et al.*, 2011). Este gênero foi detectado em reator DHS tratando efluente sintético de reator anaeróbico com eficiente remoção de metano em distintas taxas de ar aplicadas (HATAMOTO *et al.*, 2011).

A revisão de literatura apresentada na presente tese mostrou que sistemas de tratamento empregados para avaliação da remoção de metano dissolvido sem inoculação de micro-organismos são escassos. Portanto, de certo modo, os estudos que envolvem crescimento natural de micro-organismos podem apresentar algumas dificuldades para promover o crescimento de determinados grupos, e representam desafio na literatura da área. Como já citado, em nenhum momento desta etapa o sistema foi inoculado, ou seja, os micro-organismos detectados nas amostras dos biorreatores foram provenientes do reator UASB, que também teve crescimento natural em seu interior. Este crescimento natural dos micro-organismos no sistema completo esteve associado, dentre outros fatores, à disponibilidade de substrato nos reatores. Da mesma forma, os estudos de Garcia *et al.* (2015, 2017) que ao avaliarem o mesmo sistema de tratamento, com condições operacionais distintas (ausência de oxigênio e variados TDHs), observaram a presença de bandas relacionadas ao gênero *Methylomonas* sp. (*Gammaproteobacteria*) nos biorreatores usados para pós-tratamento de efluente de reator UASB tratando esgoto doméstico da mesma região de contribuição. A presença deste grupo no pós-tratamento foi associada à disponibilidade do metano que permaneceu dissolvido no efluente do reator UASB.

O presente estudo e os de Garcia *et al.* (2015, 2017) foram conduzidos com efluente real e a diferença nos grupos de metanotróficas detectados está provavelmente relacionado às diferenças no TDH e meio suporte (aqueles autores trabalharam com TDH igual a 24h e o reator não apresentava meio suporte).

A presença de bactérias metanotróficas aeróbias em ambiente anaeróbico ou anóxico já foi relatada na literatura (SINISCALCHI *et al.*, 2017; FERRER *et al.*, 2011; SCHUBERT *et al.*, 2006). No presente trabalho, embora o R-controle seja considerado um reator controle em

relação à microaeração e que, portanto, esperaria ausência de oxigênio, a abertura do mesmo para introdução de sondas multiparamétricas pode ter contribuído para a entrada de ar no momento das coletas e, logo, permitindo o crescimento de bactérias aeróbias e/ou facultativas.

Além dos gêneros supracitados de bactérias metanotróficas aeróbias, foram detectados outros grupos envolvidos no ciclo do carbono, que podem estar envolvidos na produção ou oxidação do metano. Destaca-se a presença de arqueias metanogênicas que podem realizar metanogênese reversa e são classificadas dentro do grupo ANME (arqueias metanotróficas anaeróbias), pertencentes ao filo *Euryarchaeota* (JAGERSMA *et al.*, 2009). Estes micro-organismos foram encontrados em ambos os reatores com maior abundância nas amostras do lodo (Tabela 7.6) onde não ocorreu introdução de ar.

Os gêneros *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter* e *Methanospirillum* detectados neste estudo, juntamente com *Methanospirillum* e *Methanocorpusculum*, são os mais comumente detectados em reatores anaeróbios (LECLERC *et al.*, 2004). Além destes, o gênero *Methanosaeta*, formado por metanogênicas acetoclásticas, foi detectado em todas as amostras com maior abundância nas amostras do lodo do R-ar (TDH 6h) e R-controle (TDH 3h). Arqueias do gênero *Methanosaeta* podem ter contribuído para produção do metano no pós-tratamento a partir da degradação do acetato (não avaliado) produzido na degradação da matéria orgânica disponível no sistema.

Cabe salientar que a abundância dos gêneros no lodo reduziu com a diminuição do TDH de 6h para 3h. Similarmente, Garcia (2010) observou uma diminuição na abundância dos gêneros *Methanobacterium* e *Methanobrevibacter* em reatores anaeróbios expostos a luz solar tratando efluente de reator UASB ao reduzir o TDH.

As bactérias ANME podem realizar oxidação do metano acoplada a redução do sulfato e sempre ocorrem em associação com BRS. Embora os mecanismos dessa associação não estejam completamente compreendidos, a evidência da metanogênese reversa é um indicativo da transferência de elétrons para redução sulfato (MEULEPAS *et al.*, 2010). As BRS foram detectadas em abundância muito baixa em todas as amostras coletadas dos biorreatores (conforme detalhado no item 7.2.3). Dessa forma, dificilmente o processo de oxidação anaeróbia do metano com redução do sulfato ocorreu no pós-tratamento. Do contrário, a presença destes grupos pode ter prejudicado a eficiência do sistema no que se refere à remoção do metano do efluente anaeróbio.

Tabela 7.6 – Abundância relativa (%) dos gêneros de arqueias metanogênicas nas amostras dos reatores R-controle (R-c) e R-ar, nas Fases 1 (TDH de 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1

Gêneros	Fase 1 (TDH 6h)				Fase 2 (TDH 3h)			
	Anéis		Lodo		Anéis		Lodo	
	R-c*	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar
<i>Methanobacterium</i>	0,3	0,57	20,66	40,18	0,41	3,5	12,58	0,18
<i>Methanobrevibacter</i>	0,02	0,02	0,37	0,82	0,02	0,11	0,35	0,01
<i>Methanospirillum</i>	0,04	0,0	0,04	0,13	0,04	0,53	1,96	0,01
<i>Methanosaeta</i>	0,25	0,55	2,84	5,13	0,24	1,85	4,86	0,13
Total (%)	0,61	1,14	23,91	46,26	0,71	5,99	19,75	0,33

*R-c: R-controle

Além das bactérias metanotróficas supracitadas, foi detectado o gênero *Methyloversatilis* nas amostras do lodo do R-ar na Fase 2 (TDH 3h) com abundância igual a 0,10%. Este gênero compreende bactérias metilotróficas facultativas que crescem em uma variedade de substratos orgânicos (DING *et al.*, 2018).

7.2.2.2 Micro-organismos envolvidos na degradação da matéria orgânica

Dois filos que incluem grande parte dos micro-organismos envolvidos na degradação da matéria orgânica (*Firmicutes* e *Euryarchaeota*) foram mais abundantes nas amostras do lodo do R-controle e R-ar na Fase 1. Além destes, o filo *Proteobacteria* que inclui gêneros fototróficos e heterotróficos foram abundantes nas amostras dos anéis, principalmente na Fase 1, conforme apresentado na Tabela 7.4.

Ao analisar as abundâncias dos gêneros de bactérias fermentativas e bactérias sintróficas acetogênicas, observa-se que foram superiores nas amostras dos anéis (Tabela 7.7). Isto indica que os processos de hidrólise a acetogênese podem ter ocorrido primordialmente nos anéis dos biorreatores, enquanto as condições no lodo (ausência de oxigênio) foram possivelmente mais propícias para ocorrência da metanogênese, uma vez que as arqueias estiveram em maior abundância nesta região.

A porção cônica dos biorreatores, onde ocorreu acúmulo de lodo, não tinha contato direto com o oxigênio atmosférico, tampouco com a aeração. Dessa forma, a maior abundância de micro-organismos metanogênicos no lodo, quando comparado com os anéis, dos biorreatores da Fase 1 pode estar associada à ausência de oxigênio na mesma.

A redução do TDH para 3h (Fase 2) acarretou uma diminuição da abundância de bactérias fermentativas e acetogênicas, assim como as metanogênicas conforme já mencionado. No entanto, observa-se que as bactérias também foram mais abundantes nos anéis, enquanto as arqueias no lodo, como foi observado na Fase 1. Mesmo havendo uma redução na abundância dos micro-organismos envolvidos na digestão anaeróbia na Fase 2, não foi observado um impacto na remoção de DQO no pós-tratamento.

Os demais gêneros de bactérias fermentativas e acetogênicas detectadas em abundância <0,5% estão apresentados na Tabela A.3 do Apêndice.

Tabela 7.7 – Abundância relativa (%) dos gêneros de bactérias fermentativas e acetogênicas nas amostras dos reatores R-controle (R-c) e R-ar, nas Fases 1 (TDH de 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1 (com abundância >0,5% em pelo menos uma amostra)

Gêneros	Fase 1 (TDH 6h)				Fase 2 (TDH 3h)			
	Anéis		Lodo		Anéis		Lodo	
	R-c	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar
<i>Bacillus</i>	0,15	1,32	0,01	0,13	0,00	0,00	0,02	0,00
<i>Clostridium sensu stricto 1</i>	0,23	0,53	4,45	6,87	0,14	1,68	6,33	0,16
Total (%)	0,38	1,85	4,46	7,00	0,14	1,68	6,35	0,16

7.2.3 Grupos de micro-organismos envolvidos no ciclo do enxofre

As análises do sequenciamento indicaram abundância muito baixa (<0,05%) de bactérias sulfurosas verdes do gênero *Chlorobium* no lodo de ambos os reatores e fases, e ausência nas amostras dos anéis. O gênero *Chlorobaculum* foi detectado em maior abundância nos anéis do R-ar (1,64%) e lodo do R-controle (1,01%), ambos da Fase 2 (Tabela 7.8). O potencial de óxido-redução (pOR) negativo em ambos os biorreatores e fases pode ter favorecido a permanência deste grupo proveniente do reator UASB. De fato, sulfobactérias verdes do gênero *Chlorobium* já foram detectadas na espuma do reator UASB, tratando esgoto doméstico (GARCIA, 2014). Adicionalmente, a baixa abundância de bactérias sulfurosas verdes nos anéis de polipropileno na Fase 1 pode estar relacionada ao oxigênio dissolvido, mesmo que presente em baixas concentrações, uma vez que estas bactérias são estritamente anaeróbias (LIN *et al.*, 2018).

Bactérias do gênero *Chlorobium* foram detectadas em biorreatores anaeróbios expostos à luz solar, com meio suporte e TDHs 24 e 12h com remoção de sulfeto superior a 90% e formação de S⁰ (GARCIA *et al.*, 2017).

Dentre as bactérias sulfurosas púrpuras o único gênero detectado foi *Allochromatium* com maior abundância no lodo do R-controle (0,59%) no TDH 3h, na biomassa aderida nos anéis do R-ar (0,41%) e R-controle (0,36%) no TDH 6h (Tabela 7.8). A análise de S⁰ do lodo (não foi realizada) e seria complementar a do SNG ao indicar se estes micro-organismos realizaram a fotossíntese anoxigênica com oxidação parcial do sulfeto.

Bactérias do gênero *Allochromatium* são ecologicamente versáteis e habitam diferentes ambientes com a presença de sulfeto de hidrogênio como lagos, estuários, pântanos e poços com esgotos. *Allochromatium vinosum* são capazes de mudar de oxidação anaeróbia para aeróbia do enxofre e crescerem quimiotroficamente no escuro com tiosulfato e limitação de oxigênio (GHOSH & DAM, 2009).

Tabela 7.8 – Abundância relativa (%) dos gêneros de bactérias sulfurosas púrpura e verde nas amostras dos reatores R-controle (R-c) e R-ar, nas Fases 1 (TDH de 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1

Gêneros	Fase 1 (TDH 6h)				Fase 2 (TDH 3h)			
	Anéis		Lodo		Anéis		Lodo	
	R-c	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar
<i>Allochromatium</i>	0,36	0,41	0,01	0,02	0,03	0,00	0,00	0,59
<i>Chlorobium</i>	0,00	0,00	0,02	0,02	0,00	0,00	0,03	0,03
<i>Chlorobaculum</i>	0,07	0,09	0,13	0,02	0,00	1,64	1,01	0,01
Total (%)	0,43	0,50	0,16	0,06	0,03	1,64	1,04	0,63

Segundo Lin *et al.* (2018) as bactérias sulfurosas púrpuras são mais versáteis, pois crescem fotoautotroficamente e fotoheterotroficamente, e onde a carga orgânica é elevada estas bactérias frequentemente dominam em relação as verdes. No entanto, as verdes sulfurosas, em comparação com outros organismos fototróficos, podem desempenhar sua função em condições de intensidade de luz muito mais baixa (TANG *et al.*, 2009), mas não na ausência dela (POKORNA & ZABRANSKA, 2015).

As famílias *Chlorobiaceae*, que compreende as bactérias verdes sulfurosas *Chlorobium* e *Chlorobaculum* e a família *Chromatiaceae*, a qual pertence o gênero *Allochromatium* de bactéria sulfurosa púrpura fazem parte dos principais tipos de bactérias fotossintéticas. O metabolismo fotossintético destas bactérias permite que usem luz como fonte de energia e utilizem compostos orgânicos, sulfeto e amônia como doador de hidrogênio e fonte de carbono

para fotossíntese. Adicionalmente, o crescimento de bactérias fotossintéticas pode ocorrer em baixas concentrações de OD ($<0,1$), pOR entre -330 a -100mV e luz natural (LU *et al.*, 2019).

Pokorna e Zabranksa (2015) apontaram que um dos principais problemas associados com a utilização de bactérias fototróficas oxidadoras de sulfeto consiste na taxa de crescimento lento e, portanto, a fonte de luz deve ser suficientemente forte, aumentando os custos operacionais. A iluminação, natural ou artificial, e design de fotobiorreatores são os principais fatores para determinar o sucesso na aplicação de bactérias oxidadoras de enxofre fototróficas (AN & KIM, 2000); o crescimento dos micro-organismos e a taxa de oxidação do sulfeto são dependentes da intensidade da luz (HURSE *et al.*, 2008 *apud* LIN *et al.*, 2018).

O presente estudo, assim como os reportados na revisão de literatura deste documento, aponta que a luz natural pode propiciar o crescimento de bactérias fototróficas em sistemas de tratamento de esgotos, mas a abundância destes pode ser reduzida caso a incidência de luz e demais condições internas do sistema não seja favorável para o crescimento. Estes fatores associados a ausência de inoculação, ou seja, a biomassa ser a mesma que cresceu no reator UASB, foram fundamentais na determinação do perfil da comunidade microbiana no pós-tratamento.

A maior abundância de bactérias do ciclo do enxofre nas amostras dos biorreatores foi de bactérias não sulfurosas – púrpuras e verdes (Figura 7.15). Com base nesta figura observa-se que na Fase 1 a distribuição dos grupos foi semelhante entre R-controle e R-ar e maior diversidade foi observada nos anéis em relação ao lodo. A redução do TDH na Fase 2 acarretou em diferença na abundância de micro-organismos entre os biorreatores nos anéis e lodo.

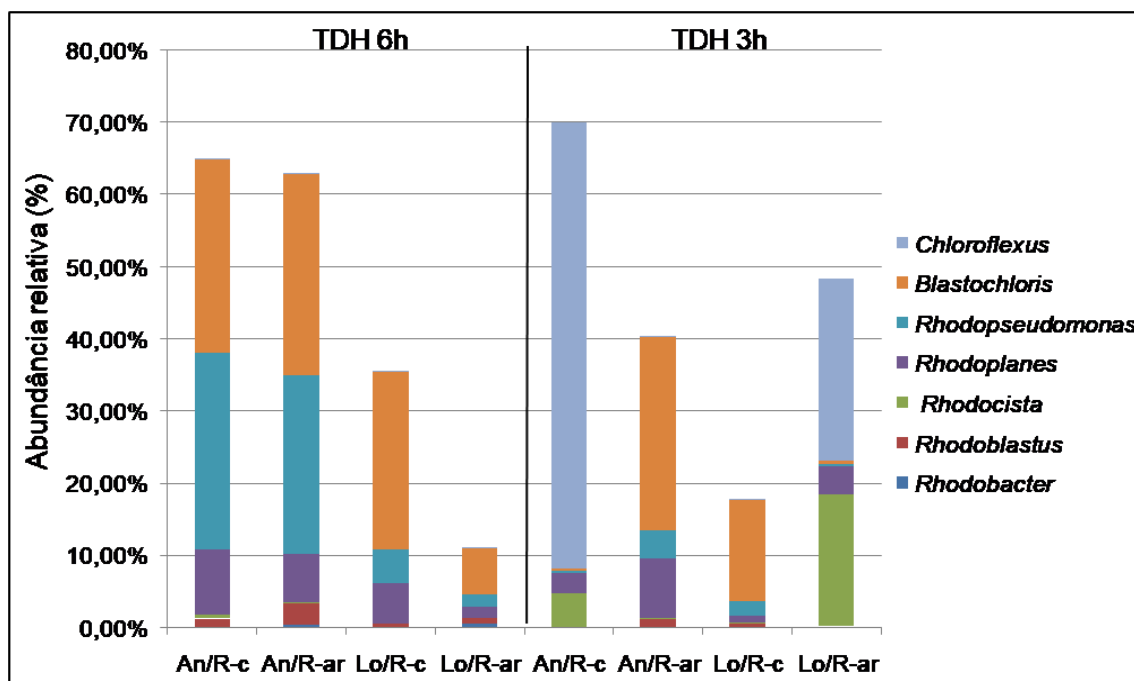


Figura 7.15 – Gêneros de bactérias não sulfurosas púrpuras e verdes detectados nas amostras estudadas

Nota: An (anéis de polipropileno); Lo (lodo); R-c (reator controle); R-ar (reator microaerado).

Dentre as bactérias não sulfurosas verdes destaca-se a presença do gênero *Chloroflexus* (família *Chloroflexaceae*) que apresentou elevada abundância nos anéis do R-controle (61,91%) e lodo do R-ar (25,18%) na Fase 2 (Tabela 7.9). Bactérias não sulfurosas verdes são organismos oxidadores de sulfeto, filamentosos e fototróficos (DAHL, 2017). Portanto, parte do sulfeto removido nessa fase pode ter sido resultante do metabolismo deste grupo. *Chloroflexus* foram detectadas em biorreator durante tratamento de esgotos sob condições microaeróbias com co-redução de sulfato e nitrato (XU *et al.*, 2017). A família *Chloroflexaceae* está entre os principais grupos de bactérias fotossintéticas cuja demanda por luz e oxigênio permite que sejam encontrados nos seguintes ambientes: luz/anaeróbio, luz/microaeróbio, luz/aeróbio, escuro/aeróbio e escuro/anaeróbio (LU *et al.*, 2019).

Tabela 7.9 – Abundância relativa (%) dos gêneros de bactérias não sulfurosas púrpuras e verdes nas amostras dos reatores R-contrôle (R-c) e R-ar, nas Fases 1 (TDH de 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1

Gêneros	Fase 1 (TDH 6h)				Fase 2 (TDH 3h)			
	Anéis		Lodo		Anéis		Lodo	
	R-c	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar
<i>Chloroflexus</i>	0,20	0,18	0,19	0,16	61,91	0,01	0,04	25,18
<i>Blastochloris</i>	26,68	27,79	24,56	6,31	0,20	26,84	14,13	0,55
<i>Rhodobacter</i>	0,11	0,45	0,16	0,60	0,02	0,03	0,09	0,09
<i>Rhodoblastus</i>	1,14	2,91	0,36	0,70	0,00	1,13	0,52	0,01
<i>Rhodocista</i>	0,39	0,04	0,00	0,00	4,63	0,01	0,01	18,20
<i>Rhodoplanes</i>	9,17	6,75	5,50	1,53	2,79	8,38	0,97	3,91
<i>Rhodopseudomonas</i>	27,23	24,72	4,77	1,72	0,40	3,88	1,91	0,31
Total (%)	64,91	62,84	35,54	11,03	69,96	40,27	17,67	48,25

Dentre as bactérias não sulfurosas púrpuras os gêneros *Rhodoplanes*, *Rhodopseudomonas* e *Blastochloris* foram detectados em maior abundância em todas as amostras (Figura 7.15 e Tabela 7.9). Bactérias não sulfurosas púrpuras podem oxidar enxofre e são tipicamente capazes de crescer por metabolismo fotoautotrófico, fotoheterotrófico e quimiotrófico, com preferência pelo modo fotoheterotrófico (IMHOFF *et al.*, 2005; CHITAPORNPAN *et al.*, 2013; DAHL, 2017). Muitos membros que realizam metabolismo fotoautotrófico fazem a oxidação parcial do sulfeto a enxofre elementar (GHOSH & DAM, 2009). No entanto, o sulfato é o produto final principal de muitos *Rhodovulum* spp., *Rhodopseudomonas palustris* ou *Blastochloris sulfoviridis* (GHOSH & DAM, 2009). As características deste grupo não somente permitem que ocupem uma ampla variedade de habitats, mas também uma vantagem na competição com as verdes sulfurosas em ambientes com limitação de luz (MADIGAN *et al.*, 2010). São comumente encontradas em sistemas de tratamento de águas residuárias, embora não necessariamente por estarem envolvidas na oxidação do sulfeto (LIN *et al.*, 2018).

De todos os gêneros de bactérias não sulfurosas púrpuras apenas *Rhodobacter* (ordem *Rhodobacterales*) foi encontrado em abundância inferior a 1% em todas as amostras. Bactérias deste gênero foram detectadas em biorreator anaeróbio preenchido com espuma de poliuretano (TDH 12h) removendo sulfeto de efluente de reator UASB (GARCIA *et al.*, 2017). O gênero *Rhodoblastus* (ordem *Rhizobiales*) só não foi detectado nos anéis do R-contrôle (TDH 3h) e em

abundância inferior a 0,05% em amostras do lodo no R-controle (TDH 6h) e R-ar (TDH 3h) (Tabela 7.9). A avaliação da remoção de poluentes (DQO) por *Rhodobacter sphaeroides* em biorreator de membrana indicou que a melhor condição é na presença de luz natural e microaeróbio (0,5 a 1,0 mg.L⁻¹), quando comparado com luz artificial/anaeróbio e escuro/aeróbio (LU *et al.*, 2013). A maior abundância deste gênero no R-ar da Fase 1 pode estar relacionada a presença do oxigênio introduzido, e ter relação tanto com a remoção de sulfeto quanto de matéria orgânica.

O gênero *Rhodocista* foi encontrado nas amostras dos anéis do R-controle e no lodo do R-ar com abundância relativa iguais a 4,63% e 18,20%, respectivamente, na Fase 2. Nas demais amostras este gênero esteve presente com abundância inferior a 0,5%. O gênero *Rhodoplanes* foi detectado em abundância superior a 1% em todas as amostras, com maiores valores nos anéis do R-controle (9,17%) e anéis do R-ar (8,38%) nas Fases 1 e 2, respectivamente. Representantes do gênero *Rhodopseudomonas* estiveram presentes em maior abundância na Fase 1, especialmente nas amostras dos anéis de ambos os reatores (Tabela 7.9). Representantes deste gênero já foram reportadas por promoverem elevada remoção de DQO e N-NH₃ em fotobiorreator em batelada com concentrações de OD >2 mg.L⁻¹ (MENG *et al.*, 2017).

Elevada abundância relativa (>1%) de *Blastochloris* foi observada em todas as amostras com exceção das amostras dos anéis do R-controle e lodo do R-ar no TDH 3h.

Das bactérias quimiotróficas oxidadoras de enxofre (bactérias incolores) os gêneros *Acidithiobacillus*, *Thiobacillus* e *Thiothrix* foram detectadas em baixíssima abundância nos biorreatores (<0,5%). A maior abundância observada foi de *Thiobacillus* nas amostras dos anéis do R-ar da Fase 2 e igual a 0,24%. Algumas espécies de *Thiobacillus*, *Thiomicrospira* e *Thiosphaera* exibem diferentes características metabólicas crescendo anoxicamente usando NO₃⁻ ou NO₂⁻ comoceptor final de elétrons (desnitrificação autotrófica) (HATAMOTO *et al.*, 2011); *Thiobacillus* já foram detectadas também em reator EGSB para redução de sulfato e nitrato (XU *et al.*, 2017). Embora conhecidas pelo metabolismo versátil, as condições do sistema UASB/biorreatores não favoreceu o crescimento deste grupo, seja pela disponibilidade de oxigênio ou pela disputa com as demais bactérias envolvidas na oxidação do sulfeto. Estudo anterior desenvolvido pelo nosso grupo apontou a presença de bactéria incolor (*Thiobacillus* sp.) na espuma do reator UASB, o mesmo usado como afluente aos biorreatores da presente

pesquisa. A presença deste grupo foi associada ao potencial de remoção de sulfeto neste sistema e pela presença do oxigênio na superfície de decantação (GARCIA, 2014).

Outros grupos de bactérias foram detectados nas amostras e puderam estar envolvidos nas rotas do enxofre no sistema. *Acinetobacter* capazes de oxidar sulfeto (RAMOS *et al.*, 2013) foram observadas em maior abundância no lodo do R-ar (0,60%) e lodo do R-controle (0,14%), na Fase 1. Foi detectado *Pseudomonas* em abundância muito baixa e igual a 0,02% nos anéis do R-ar (TDH 6h) e lodo do R-ar (TDH 3h). Estas bactérias pertencem a *Gammaproteobacteria* e são capazes de oxidar sulfeto quimiolitotrophicamente com nitrato como acceptor de elétrons e já foram observadas em reator para co-redução de nitrato e sulfato com formação de S^0 (CHEN *et al.*, 2017; XU *et al.*, 2017). Yang *et al.* (2018) apontaram que este gênero esteve correlacionado à remoção de $N-NH_4^+$ e $N-NO_3^-$ na presença de luz, contudo em condições aeróbias (OD igual a 2 mg.L^{-1}). *Paracoccus* foi observado com abundância superior a 0,5%, sendo os maiores valores para amostras do lodo do R-ar (0,60%) na Fase 1 e lodo do R-controle (0,53%) na Fase 2. Este gênero foi responsável pela oxidação do S^{2-} a S^0 em reator destinado a simultânea dessulfurização e desnitrificação (CHEN *et al.*, 2014).

A elevada abundância de bactérias não sulfurosas em relação às sulfurosas e incolores indica que o sulfeto foi removido principalmente por estes micro-organismos e pode ter ocorrido devido versatilidade metabólica das primeiras. O somatório da abundância relativa das bactérias não sulfurosas púrpuras e verdes nas amostras e fases analisadas aponta maior valor nos anéis do R-controle (69,96%) da Fase 2, seguido pelos anéis do R-controle (64,91%) e R-ar (62,84%) da Fase 1. A maior remoção de sulfeto no R-ar (79%) na Fase 1 não condiz com maior presença de bactérias oxidadoras de sulfeto (sulfurosas e não sulfurosas), que estiveram em maior abundância no R-controle da Fase 2 cuja remoção de sulfeto foi menor em relação aos demais reatores e igual a 22%.

Com relação à presença de gêneros de bactérias redutoras de sulfato (BRS), foram detectadas em baixa abundância relativa nos biorreatores (Tabela 7.10). Este resultado justifica a ausência de redução do sulfato afluente nos biorreatores cujas concentrações medianas foram $15 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, $22 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ e $26 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ na Fase 1 e $14 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, $12 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ e $12 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ na Fase 2 para efluente de UASB, R-controle e R-ar, respectivamente. Além disso, a baixa abundância de BRS pode indicar que não houve oxidação do metano acoplada à redução do sulfato.

Tabela 7.10 - Abundância relativa (%) dos gêneros de bactérias redutoras de sulfato nas amostras dos reatores R-controle (R-c) e R-ar, nas Fases 1 (TDH de 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1

Gêneros	Fase 1 (TDH 6h)				Fase 2 (TDH 3h)			
	Anéis		Lodo		Anéis		Lodo	
	R-c	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar
<i>Desulfobulbus</i>	0,00	0,00	0,03	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Desulfomonile</i>	0,02	0,12	0,12	0,24	0,00	0,19	0,12	0,00
<i>Desulfovibrio</i>	0,19	0,13	0,00	0,01	0,10	0,49	0,61	0,17
<i>Sphingomonas</i>	0,00	0,02	0,00	0,00	0,35	0,00	0,00	0,10
<i>Syntrophorhabdus</i>	0,01	0,03	0,17	0,22	0,01	0,37	0,86	0,02
Total (%)	0,22	0,30	0,32	0,53	0,46	1,05	1,59	0,29

Além dos micro-organismos responsáveis pela oxidação do sulfeto e redução do sulfato, outros grupos do ciclo do enxofre foram observados em baixas abundâncias relativas. *Desulfurella* foi observado com baixíssima abundância (0,01%) no lodo do R-ar e *Geobacter* com 0,03% nos anéis do R-ar, ambos na Fase 2. Estes gêneros podem reduzir enxofre elementar a sulfeto (XU *et al.*, 2017).

A maior formação de sulfato em relação ao enxofre elementar neste estudo pode ser associada à disponibilidade de sulfeto juntamente com a incidência de luz. De acordo com a estequiometria de oxidação do sulfeto e pela curva de van Niel, com limitação de luz e excesso de sulfeto o S^0 é formado, do contrário, com maior disponibilidade de luz e menor de sulfeto o sulfato é formado. Estas condições luz/sulfeto juntamente com as condições do reator UASB, de onde os micro-organismos foram provenientes, e dos biorreatores (com ou sem introdução de ar), foram responsáveis por priorizar a rota de oxidação total de sulfeto a sulfato. De fato, os estudos cuja formação de S^0 é muito elevada há o emprego de efluente sintético com altas cargas de sulfeto, o que difere consideravelmente das cargas comumente medidas no esgoto doméstico, a exemplo do presente estudo. A baixa abundância de grupos fototróficos indica a baixa disponibilidade da luz nos biorreatores. Cork (1985) apontaram a luz como fator limitante em reatores cilíndricos, onde a incidência na superfície externa é superior.

7.2.4 Grupos de micro-organismos envolvidos no ciclo do nitrogênio

Não foram detectados gêneros de bactérias nitrificantes como os envolvidos na oxidação da amônia, a exemplo de *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus* e *Nitrospira*, bem como oxidadoras de

nitrito como *Nitrobacter*. Este resultado está de acordo com ausência de remoção de nitrogênio amoniacal no pós-tratamento. Da mesma forma, não foram detectados grupos envolvidos na desnitrificação autotrófica como *Thiobacillus denitrificans*, *Thiomicrospira denitrificans* e *Pseudomonas stutzeri*. Alguns grupos envolvidos na desnitrificação heterotrófica foram detectados nas amostras analisadas, com abundância superior a 1% apenas na amostra do lodo do R-ar na Fase 2 (Tabela 7.11). Não foram observadas sequências relacionadas à ordem *Brocadiales*.

7.2.5 Resumo dos principais processos ocorrendo nos reatores em função da amostra (biofilme dos anéis e lodo) e do TDH

A distribuição dos grupos de micro-organismos, envolvidos nos ciclos do carbono, enxofre e nitrogênio, com base nas condições operacionais e fases está apresentada na Tabela 7.11.

Com base nesta tabela foram feitas considerações em relação à presença e abundância dos grupos microbianos e a ocorrência dos processos, de acordo com as análises físico-químicas, por ciclo dos elementos.

Tabela 7.11 - Distribuição fisiológica e abundância de micro-organismos em nível de gênero, detectados nas amostras dos anéis e lodo dos biorreatores em ambas as fases da Etapa 1

Grupos microbianos	Fase 1 (TDH 6h)				Fase 2 (TDH 3h)			
	Anéis ¹		Lodo ²		Anéis		Lodo	
	R-c	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar
Bactérias sulfurosas ³	0,54	0,69	0,62	1,28	0,07	2,03	1,62	0,08
Bactérias fototróficas não sulfurosas ⁴	64,91	62,84	35,54	11,03	69,96	40,27	17,67	48,25
Bactérias redutoras de sulfato ⁵	0,22	0,31	0,52	0,85	0,46	2,25	2,66	0,29
Bactérias metanotróficas ⁶	1,2	2,19	0,71	0,14	0,42	0,20	0,14	0,05
Arquéias metanogênicas ⁷	0,61	1,14	23,91	46,26	0,71	5,99	19,75	0,33
Bactérias Nitrificantes	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Desnitrificantes heterotróficas e redutoras de nitrato ⁸	0,98	1,82	0,62	0,85	0,78	0,37	0,66	2,66

Nd: Não detectado; ¹Amostra da biomassa aderida nos anéis de polipropileno; ²Amostra do lodo acumulado na porção inferior dos biorreatores; ³Sequências relacionadas a bactérias sulfurosas verdes – *Chlorobaculum* (*Chlorobiales*) e *Chlorobium* (*Chlorobiales*), e púrpuras *Allochromatium* (*Chromatiales*); bactérias oxidadoras de enxofre *Paracoccus* (*Rhodobacterales*), *Acinetobacter* (*Pseudomonadales*) e *Pseudomonas* (*Pseudomonadales*); bactérias incolores *Acidithiobacillus* (*Acidithiobacillales*), *Thiobacillus* (*Betaproteobacteriales*) e *Thiothrix* (*Thiotrichales*); ⁴Sequências relacionadas a bactérias não sulfurosas - verdes do gênero *Cloroflexus* (*Chloroflexales*) e púrpuras dos gêneros *Blastochloris* (*Rhizobiales*), *Rhodobacter* (*Rhodobacterales*), *Rhodoblastus* (*Rhizobiales*), *Rhodocista* (*Azospirillales*), *Rhodoplanes* (*Rhizobiales*) e *Rhodopseudomonas* (*Rhizobiales*); ⁵Sequências relacionadas a bactérias redutoras de sulfato dos gêneros *Desulfomonile*, *Desulfobulbus*, *Desulfovibrio* (*Desulfobacteriales*), *Smithella* (*Syntrophobacteriales*), *Sphingomonase* *Syntrophorhabdus*; ⁶Sequências relacionadas a bactérias metanotróficas dos gêneros *Methylococcus* (*Methylococcales*), *Methylocystis* (*Rhizobiales*) e *Methylocaldum* (*Methylococcales*); ⁷Sequências relacionadas a arqueias metanogênicas que poderiam fazer a metanogênese reversa e serem consideradas metanotróficas (ANME) dos gêneros *Methanobacterium* (*Methanobacteriales*), *Methanobrevibacter* (*Methanobacteriales*), *Methanospirillum* (*Methanomicrobiales*) e *Methanosaeta* (*Methanosarcinales*); ⁸Desnitrificantes heterotróficas e redutoras de nitrato* dos gêneros *Acidovorax*, *Azoarcus*, *Dechloromonas* e *Ralstonia* (*Betaproteobacteriales*), *Azospirillum* (*Azospirillales*), *Bacillus* (*Bacillales*), *Flavobacterium* (*Flavobacteriales*), *Hyphomicrobium** (*Rhizobiales*), *Paracoccus* (*Rhodobacterales*), *Pseudomonas* (*Pseudomonadales*) e *Thermomonas* (*Xanthomonadales*).

- **Considerações em relação aos grupos envolvidos no ciclo do carbono**

Em relação às bactérias metanotróficas maior abundância foi obtida no R-ar da Fase 1 e igual a 2,19%. Neste reator a eficiência de remoção de metano foi significativamente maior (55%) que no R-controle (30%) desta fase, bem como em relação aos biorreatores da Fase 2. A maior abundância de metanotróficas nos anéis do R-ar indica que a oxidação do metano ocorreu primordialmente na porção cilíndrica do reator, onde a biomassa esteve aderida aos anéis de polipropileno. Além da influência da microaeração, a avaliação da distribuição dos grupos microbianos aponta que a redução do TDH afetou negativamente a abundância dos mesmos, uma vez que nos biorreatores da Fase 2 os valores foram bem inferiores. Isto pode estar relacionado à menor taxa de transferência de oxigênio ocasionada pelo aumento da vazão do líquido.

Na Tabela 7.11 estão representados em “Arquéias metanogênicas” gêneros de arqueias metanogênicas, também conhecidas como metanotróficas anaeróbias (ANME), devido à capacidade de realizarem metanogênese reversa. Todos os gêneros detectados neste trabalho são pertencentes às ordens reportadas na literatura como capazes de realizar a metanogênese reversa (Tabela 7.6). A maior abundância destes micro-organismos foi observada no lodo dos biorreatores na Fase 1 (23,91% R-controle e 46,26% R-ar). A redução do TDH implicou em menor abundância destes grupos no lodo de ambos os biorreatores, mas aumento nos anéis do R-ar (5,99%). Importante salientar que estas arqueias podem realizar a oxidação anaeróbia do metano acoplada à redução do sulfato. Entretanto, a abundância de BRS foi muito baixa nos biorreatores indicando que provavelmente este processo não ocorreu no sistema, mesmo com a presença de gêneros de BRS (como *Desulfobulbus* e *Sphingomonas*) reportados como capazes de se associarem a ANME.

Ainda com relação às arqueias metanogênicas, e com base na abundância deste grupo nas amostras (Tabela 7.10), pressupõe-se que se envolvidas nas rotas de formação de metano, a atividade foi superior no lodo na Fase 1, uma vez que a presença deste grupo foi muito baixa nas amostras dos anéis. Em adição, ressalta-se que a maior remoção de CH₄ obtida neste estudo, representada por 55% no R-ar no TDH 6h, pode ter sido superior a este valor, isto porque no R-ar a abundância de arqueias metanogênicas foi mais elevada (igual a 46,26% no lodo). Mesmo nestas condições as metanotróficas, presentes em abundância bem inferior (2,19 nos anéis e 0,14% no lodo do R-ar), foram capazes de oxidar o metano presente no efluente

anaeróbio. A redução do TDH para 3h diminuiu a abundância destas arqueias no lodo, em especial no R-ar e um pequeno aumento foi observado nos anéis deste mesmo reator.

- **Considerações em relação aos grupos envolvidos no ciclo do enxofre**

Com relação aos micro-organismos envolvidos na oxidação do sulfeto, observa-se que bactérias não sulfurosas foram encontradas com abundância superior a 1% em todas as amostras. Maiores abundâncias foram observadas nas amostras dos anéis de ambos os reatores no TDH 6h (64,91% no R-controle e 62,84% no R-ar), e dos anéis do R-controle (69,96%) no TDH 3h. No que se refere às bactérias sulfurosas púrpuras e verdes, que em relação as não sulfurosas estiveram em abundância muito menor, valor superior a 1% foi observado apenas no lodo R-ar (1,28%) na Fase 1, anéis do R-ar (2,03%) e lodo do R-controle (1,62%) da Fase 2.

Nas duas fases, a abundância de bactérias oxidadoras de enxofre foi superior nos anéis em relação ao lodo, com exceção apenas do R-ar no TDH 3h. Ao avaliar o efeito da microaeração na distribuição dos grupos, observa-se que o somatório da abundância de bactérias sulfurosas e não sulfurosas foi superior no R-controle em relação ao R-ar na Fase 1. Como no R-controle a diferença se deu pela maior abundância no lodo e, neste biorreator a remoção de sulfeto foi inferior (64% R-controle e 79% R-ar), supõe-se que a oxidação do sulfeto nos biorreatores ocorreu preferencialmente através da biomassa dos anéis. Vale ressaltar que a incidência de luz solar era maior na porção cilíndrica, onde os anéis de polipropileno foram colocados; esta mesma porção do reator foi microaerada (R-ar) e entrava em contato com ar para introdução de sonda. Estes fatores podem ter contribuído para variação na distribuição dos grupos entre anéis e lodo, e maior abundância de grupos com maior versatilidade metabólica como as não sulfurosas.

A partir da distribuição dos gêneros de bactérias do ciclo do enxofre observa-se que a redução do TDH e, logo, aumento da carga aplicada de sulfeto, não alterou a abundância de bactérias oxidadoras de sulfeto nas amostras dos anéis do R-controle da Fase 2. No entanto, no R-ar com a redução do TDH houve uma diminuição na abundância dos grupos nos anéis e aumento no lodo, ocorrendo uma equiparidade na distribuição dos grupos entre estas amostras. O aumento da carga de sulfeto na Fase 2 pode ter influenciado a taxa de oxidação pelas bactérias, já que baixas eficiências foram observadas nos dois biorreatores (22% no R-controle e 33% no R-ar).

Bactérias redutoras de sulfato foram detectadas apenas em abundância superior a 1% na Fase 2, em especial na biomassa do R-ar (2,25%) e lodo do R-controle (2,66%). Nesta fase as

concentrações medianas de sulfato afluente ($13,0 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$) e efluente ($12,0 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ ambos os biorreatores) não variaram, indicando que mesmo presentes no sistema (nos anéis do R-ar e lodo do R-controle) a atividade destas bactérias não culminou com redução do sulfato a ponto da sua concentração efluente reduzir, uma vez que o sulfeto presente na fase líquida estava sendo oxidado completamente a sulfato mascarando seu consumo.

- **Considerações em relação aos grupos envolvidos no ciclo do nitrogênio**

Conforme citado anteriormente, não foram detectados gêneros de bactérias oxidadoras de amônia e de nitrito, devido à ausência de inoculação. No entanto, foram detectados micro-organismos desnitrificantes heterotróficos como os gêneros *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Paracoccus*, com abundância superior a 1% nos anéis do R-ar (Fase 1) e lodo do R-ar (Fase 2) (Tabela 7.11). Estes micro-organismos podem ter contribuído para consumo de matéria orgânica e remoção de nitrato, que esteve abaixo do limite de detecção nas amostras.

7.2.6 Conclusões dos resultados físico-químicos e SNG obtidos na Etapa 1 (microaeração contínua e luz solar)

Os biorreatores foram responsáveis pela remoção de metano dissolvido apenas na Fase 1 (TDH 6h) com eficiência significativamente superior no R-ar (55%) em relação ao R-controle (30%). Maior abundância de bactérias metanotróficas, com presença de *Methylococcus* e *Methylocystis*, foi observada no R-ar desta fase condizendo com as eficiências de remoção. Menor abundância (<0,5%) destes gêneros foi observada em ambos os biorreatores na Fase 2, em que não foi observada remoção de CH_4 . A redução do TDH de 6h para 3h pode ter prejudicado a taxa de transferência de oxigênio, prejudicando o metabolismo destes grupos, além do aumento da carga afluente de $80,0 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ (Fase 1) para $160,0 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ (Fase 2).

Foi observada uma redução significativa na concentração de sulfeto dissolvido no efluente dos biorreatores em relação ao afluente. A remoção do sulfeto foi superior na Fase 1 (TDH 6h) com eficiências de remoção iguais a 79% (R-ar) e 64% (R-controle). Em ambos os biorreatores foram detectados grupos de bactérias sulfurosas e não sulfurosas, com maior abundância nos anéis em relação ao lodo. Entretanto, a maior relação $\text{S}^0_{\text{formado}}/\text{S}^{2-}_{\text{afluente}}$ no R-ar da Fase 1, indica que neste biorreator a oxidação parcial do sulfeto foi favorecida. Além da oxidação parcial do sulfeto, o aumento da concentração de sulfato indica que a oxidação total ocorreu em ambos os reatores; este processo foi resultante principalmente da oxidação química no sistema. A baixa

abundância de BRS e contínua formação de SO_4^{2-} justificam a presença de sulfato no pós-tratamento.

Menores eficiências de remoções de sulfeto foram obtidas na Fase 2 e podem, assim como observado para o gás metano, estar relacionado a menor taxa de transferência de oxigênio, além do aumento da carga de sulfeto afluente de $52,0 \text{ g.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ (TDH 6h) para $152,0 \text{ g.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$ (TDH 3h). Ainda nesta fase foram observadas baixas relações $\text{S}^0_{\text{formado}}/\text{S}^{2-}_{\text{afluente}}$ e $\text{SO}_4^{2-}_{\text{formado}}/\text{S}^{2-}_{\text{afluente}}$ mesmo com a presença de sulfobactérias verdes e bactérias não sulfurosas, e maior abundância de BRS. Como as eficiências de remoção da Fase 2 foram menores, pode-se concluir que a contribuição da remoção do sulfeto dissolvido por *stripping* não foi considerável, o que poderia ocorrer com aumento da vazão do líquido. Frações não medidas no efluente, a exemplo do tiosulfato, poderiam contribuir para melhor compreensão dos resultados desta fase. Em todas as amostras e fases as concentrações de sulfeto efluente foram superiores ao permitido pelas legislações vigentes ($1,0 \text{ mg.L}^{-1}$).

Como não foi realizada inoculação na Etapa 1 e os micro-organismos detectados nos biorreatores foram provenientes do reator UASB, não foram detectados micro-organismos nitrificantes no pós-tratamento, mesmo com a introdução de pequenas quantidades de ar. Conseqüentemente, as concentrações de nitrogênio amoniacal efluentes aos biorreatores foram tão elevadas quanto às concentrações afluente.

7.3 Efeito da aeração intermitente, ausência de luz e inoculação no pós-tratamento de efluente de reator UASB (Etapa 2)

Com base nos resultados obtidos na Etapa 1, e na ausência de nitrificação nos biorreatores usados para pós-tratamento de efluente de reator UASB, alterações nas estratégias operacionais se tornaram necessárias buscando alcançar a remoção simultânea dos elementos estudados durante a Etapa 2.

Considerando que na primeira etapa os biorreatores não foram inoculados e que a biomassa era proveniente de reator UASB, em que não há conversão de compostos nitrogenados, para a Etapa 2 optou-se por realizar inoculação com lodo com atividade nitrificante. Além disso, com base nos estudos na área, a aeração intermitente (AI) foi adotada a fim de suprimir bactérias oxidadoras de nitrito, buscando a ocorrência da nitrificação parcial e anammox, mas também contribuindo com a disponibilidade do oxigênio para demais grupos de interesse. Os

biorreatores na Etapa 2 foram cobertos, evitando a penetração da luz solar, e dessa forma o crescimento excessivo de algas, o que acarretaria prejuízo do sistema.

A Etapa 2 se refere, portanto, ao objetivo específico 2 apresentado nesta tese. O reator controle (R-controle) foi submetido a AI, ausência de luz e não foi inoculado, enquanto o R-inóculo esteve nas mesmas condições com exceção da presença de inoculação.

Após a definição do primeiro ciclo de aeração (2min *on* e 14min *off*) e início da operação do sistema, o monitoramento da eficiência do pós-tratamento foi realizado, principalmente, através das análises de nitrogênio amoniacal no efluente dos biorreatores. À medida que era observado que o NH₃ não estava sendo removido, os ciclos de aeração foram alterados (com períodos aerados mais longos) a fim de obter o melhor desempenho do sistema. Mesmo nessas condições, os demais parâmetros eram avaliados, com exceção do metano, que não foi monitorado durante as três fases da Etapa 2 porque o equipamento estava inoperante.

Os resultados referentes aos parâmetros monitorados através de sonda multiparamétrica estão apresentados na Tabela 7.12.

Tabela 7.12 – Parâmetros monitorados no interior dos biorreatores (R-controle: sem inoculação, R-inóculo: com inoculação) na Etapa 2

Fases	Biorreator	OD (mg.L ⁻¹)	pOR (mV)*	pH	Temperatura (°C)
1 (2'on/14'off) ⁽¹⁾	R-controle	0,30 (0,3)	-94,9 (35,6)	7,1 (0,2)	19,9 (2,1)
	R-inóculo	0,18 (0,3)	-102,0 (42,9)	7,0 (0,2)	20,4 (2,1)
2 (7'on/14'off) ⁽²⁾	R-controle	0,22 (0,1)	-144,7 (157,7)	7,1 (0,3)	24,7 (2,9)
	R-inóculo	0,19 (0,1)	-115,6 (166,2)	7,2 (0,4)	25,2 (3,2)
3 (21'on/14'off) ⁽³⁾	R-controle	0,24 (0,1)	-134,9 (168,4)	7,3 (0,1)	27,6 (3,3)
	R-inóculo	0,20 (0,0)	-139,8 (66,7)	7,0 (0,1)	29,5 (3,5)

Resultados obtidos a partir da mediana relativa de 19⁽¹⁾, 10⁽²⁾e 5⁽³⁾ amostragens. Em parênteses: Desvio padrão. *Eletrodo de hidrogênio

Cabe ressaltar que durante as coletas não era realizada medição dos parâmetros em período aerado e anóxico. De modo esporádico estas medições em cada período eram realizadas a fim de verificar se havia muita diferença nos valores. Como não foram notadas diferenças consideráveis, na maioria das coletas media-se apenas uma única vez e antes de iniciar a coleta

da amostra líquida. Portanto, na Tabela 7.12 estão apresentadas as medianas de todos os valores obtidos em cada fase.

Com relação ao oxigênio dissolvido, os valores medidos nas três fases operacionais da Etapa 2 foram baixos e pode estar relacionado tanto pela taxa de ar aplicada quanto pelo consumo microbiano. Baixas concentrações de OD (0,08 a 0,25 mg.L⁻¹) já foram reportadas como eficientes para remoção de nitrogênio por nitrificação parcial/anammox com eficiência superior a 80% com média de OD igual a 0,15 mg.L⁻¹ (MA *et al.*, 2015). Kneene *et al.* (2017) observaram eficiente nitrificação com concentrações limitadas de oxigênio (0,33 mg.L⁻¹) e Fitzgerald *et al.* (2015) com OD inferior a 0,30 mg.L⁻¹. Concentrações de OD iguais a 0,37 mg.L⁻¹ (LIU & WANG, 2013) e 0,50 mg.L⁻¹ (BELLUCCI *et al.*, 2011) proporcionaram completa nitrificação. Concentrações superiores foram reportadas em sistemas com aeração intermitente com OD de 0,8 a 1,2 mg.L⁻¹ e remoção de aproximadamente 80% de nitrogênio amoniacal (MIAO *et al.*, 2018), 2,8 a 5,0 mgOD.L⁻¹ (SANTOS *et al.*, 2018), 3,0 mgOD.L⁻¹ e remoção superior a 80% (YANG *et al.*, 2015).

Com base no exposto, nota-se que concentrações variadas de oxigênio dissolvido, e até mesmo inferiores às comumente adotadas em sistemas aerados, podem ser eficientes para remoção biológica de nitrogênio. Contudo, a presença de outros contaminantes no afluente, que podem requerer o oxigênio para remoção, pode ter prejudicado as nitrificantes na competição por este gás.

O potencial de óxido-redução (pOR) indicou que mesmo nas fases em que os períodos aerados foram superiores aos anóxicos os valores não foram positivos. Valores ótimos de pOR para nitrificação estão entre 100 e 300 mV e entre -50 a 50mV para desnitrificação (WANNER, 1991 *apud* MORAES *et al.*, 2013). Os baixos valores de pOR podem estar relacionados a maiores concentrações de agentes redutores, como o sulfeto produzido no reator anaeróbio pelo metabolismo BRS (GONCHARUK *et al.*, 2010 *apud* SANTOS *et al.*, 2018). De fato, o sulfeto esteve presente em ambos os biorreatores nas fases analisadas conforme apresentado a seguir.

As concentrações medianas de nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato afluente e efluente aos biorreatores indicaram que não ocorreu nitrificação no pós-tratamento (Tabela 7.13). As cargas de amônia aplicadas aos biorreatores foram 67,0, 76,0 e 148,0 g.m⁻³.d⁻¹ nas Fases 1, 2 e 3, respectivamente. Segundo Santos *et al.* (2018) a capacidade de oxidação da amônia é influenciada pela maior taxa de carga de nitrogênio. Estes autores observaram maior carga de

nitrogênio removida quando a carga aplicada aumentou de 81,0 para 173,0 $\text{g.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, embora em ambas as condições as eficiências de remoção de N-NH_4^+ tenham sido iguais a 54 e 59%, respectivamente.

No presente trabalho, em todas as fases estudadas foi observado aumento na concentração de nitrogênio amoniacal efluente aos biorreatores, em comparação ao afluente. A ocorrência de amonificação esteve de acordo com a alcalinidade monitorada durante esta etapa. Os resultados indicaram que houve uma produção de alcalinidade nos biorreatores, com medianas iguais a 230,0 $\text{mgCaCO}_3.\text{L}^{-1}$ (R-controle) e 215,0 $\text{mgCaCO}_3.\text{L}^{-1}$ (R-inóculo), em relação ao afluente (mediana igual a 202,0 $\text{mgCaCO}_3.\text{L}^{-1}$). Enquanto o consumo de alcalinidade indica a ocorrência da nitrificação, sua produção pode estar relacionada à amonificação e desnitrificação heterotrófica (OH *et al.*, 2001; SANTOS *et al.*, 2016).

As baixas concentrações de nitrito (menor que 1 mg.L^{-1}) em todas as amostras indica que a presença deste não foi responsável pela inibição de micro-organismos oxidadores de amônia do sistema. Santos *et al.* (2018) atribuíram a queda na nitrificação, decorrido um período de operação de reator de leito estruturado com recirculação e aeração intermitente, pelo aumento da concentração do nitrito, sugerindo que este último foi responsável pela inibição da comunidade nitrificante.

Tabela 7.13 – Principais resultados obtidos em relação aos compostos nitrogenados nas fases estudadas da Etapa 2

	Fases								
	1 (2'on/14'off)			2 (7'on/14'off)			3 (21'on/14'off)		
	UASB	R-c	R-i	UASB	R-c	R-i	UASB	R-c	R-i
Carga aplicada ($\text{g.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$)		67,0			76,0			148,0	
NH₃ (mg.L^{-1})	17,0	19,0	20,0	19,0	29,0	30,0	37,0	38,0	38,0
NO₂- (mg.L^{-1})	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1
NO₃⁻ (mg.L^{-1})	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0

R-c (R-controle) e R-i (R-inóculo). Resultados obtidos a partir da mediana relativa de 16⁽¹⁾, 13⁽²⁾ e 10⁽³⁾ amostragens. Em parênteses: Desvio padrão

Os resultados obtidos no presente estudo indicam, portanto, que mesmo o aumento da carga de nitrogênio amoniacal da Fase 1 para a Fase 3 não favoreceu o processo de nitrificação nos biorreatores, destacando que as concentrações superiores de NH_3 foram observadas no R-inóculo em relação ao efluente de reator UASB. De modo adicional, os períodos aerados foram inferiores ao anóxicos, bem como da maioria dos trabalhos encontrados na literatura. Silva *et al.* (2018) destacaram em sua pesquisa que há uma clara dependência e importância entre períodos aerados e não aerados para disponibilidade de elétrons e manutenção dos microorganismos.

Os ciclos de AI adotados nos biorreatores para pós-tratamento de efluente de reator UASB tratando esgoto doméstico e as baixas concentrações de oxigênio dissolvido podem ter ocasionado a ineficiência na remoção de nitrogênio amoniacal, uma vez que a atividade das bactérias oxidadoras de amônia pode ter ficado limitada nestas condições.

Como o sulfeto é um subproduto da digestão anaeróbia e que, portanto, está presente no efluente tratado, sua oxidação acoplada à redução de compostos nitrogenados tem sido amplamente estudada. O uso do sulfeto como doador de elétrons para desnitrificação autotrófica no pós-tratamento de efluente anaeróbio é vantajoso uma vez que nestes casos a concentração de matéria orgânica é baixa. No entanto, na presente pesquisa a ausência de nitrificação e a baixa disponibilidade de nitrito e nitrato no efluente do reator UASB não favoreceram a ocorrência da nitrificação autotrófica acoplada à oxidação do sulfeto.

As concentrações medianas de sulfeto foram em todo período de monitoramento da Etapa 2 iguais a 30,0, 6,3 e 11,3 mg.L^{-1} para efluente de reator UASB, R-controle e R-inóculo, na devida ordem (Figura 7.16). Estes valores representam eficiências de remoção iguais a 42% (R-controle) e 36% (R-inóculo). Assim como na Etapa 1 deste trabalho, e pelos estudos desenvolvidos pelo nosso grupo (AZEVEDO *et al.*, 2018; GARCIA *et al.*, 2017), os biorreatores operados para pós-tratamento de efluente de reator UASB tratando esgoto doméstico foram eficientes na remoção de sulfeto dissolvido. Entretanto, as concentrações efluente a ambos os biorreatores foram maiores que a permitida pela Resolução CONAMA 430/2011 (BRASIL, 2011) que estabelece o limite de 1 mgS.L^{-1} .

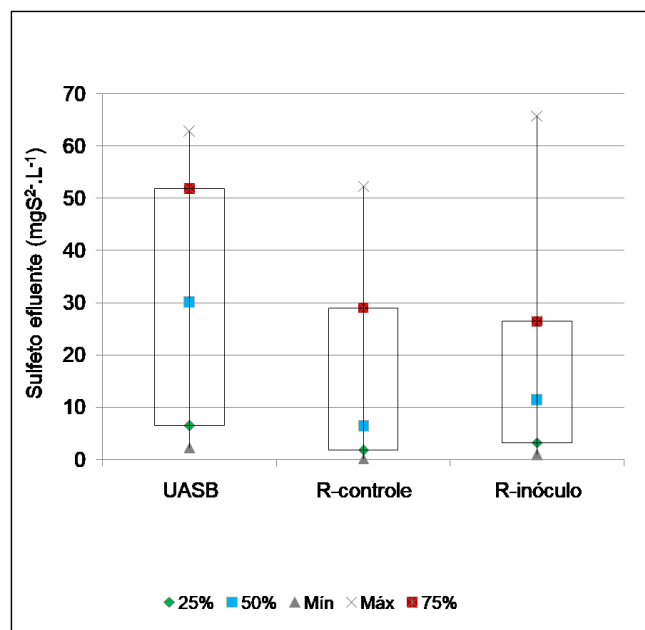


Figura 7.16 – Box-plot das concentrações medianas de sulfeto no efluente do reator UASB, R-controle (sem inoculação) e R-inóculo (com inoculação) nas fases da Etapa 2

A ocorrência de oxidação total do sulfeto nos biorreatores foi confirmada pelo aumento da concentração de sulfato no R-controle ($33,0 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$) e R-inóculo ($39,0 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$) em relação ao afluente ($9,0 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$) em todo período amostral (Figura 7.17). De acordo com o diagrama de Pourbaix, apresentado juntamente com os resultados da Etapa 1 (Figura 7.7) e com os resultados de pH e pOR medidos na Etapa 2, pode-se inferir que a reação química de formação do SO_4^{2-} prevaleceu. Não foram analisadas as concentrações de S^0 nestas amostras, mas estão armazenadas para futura análise.

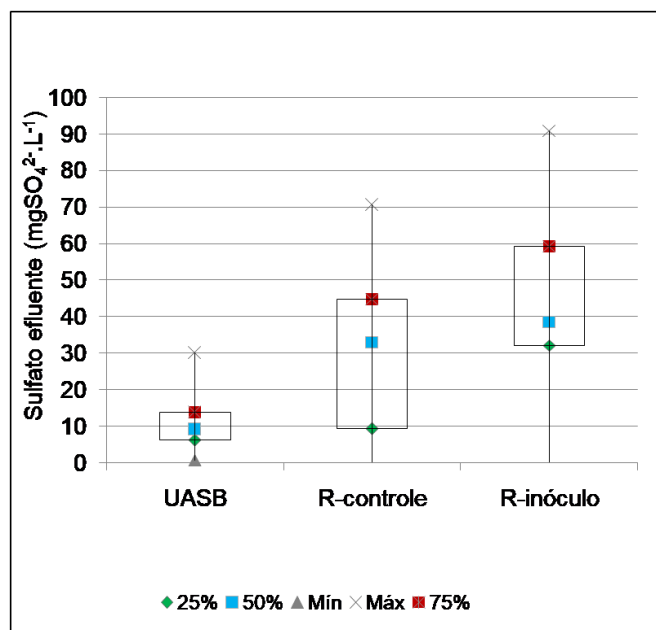


Figura 7.17 – Box-plot das concentrações medianas de sulfato no efluente do reator UASB, R-controle (sem inoculação) e R-inóculo (com inoculação) nas fases da Etapa 2

Alguns estudos apontam ainda que a presença do sulfeto possa levar a inibição da comunidade nitrificante, com toxicidade superior para oxidadoras de nitrito em relação às oxidadoras de amônia. Santos *et al.* (2018) observaram redução na remoção de nitrogênio total (50%) e nitrogênio amoniacal (54%) provavelmente por efeito inibitório do sulfeto gerado no reator anaeróbio com concentração igual a 220 mgSTD.L⁻¹. Moraes *et al.* (2013) observaram efeitos inibitórios na nitrificação causada pelo sulfeto (11,6 mgSTD.L⁻¹) em reator em batelada sequencial com AI (116min *on*/116min *off*), levando a uma redução da eficiência de remoção de 97 para 77%. Os autores destacaram que os micro-organismos do inóculo, proveniente de lodo ativado, não se adaptaram à presença do sulfeto. A concentração de sulfeto medida pelos autores foi similar a obtida na presente pesquisa.

Sears *et al.* (2004) observaram completa inibição da oxidação da amônia com concentração de sulfeto igual 0,5 mgSTD.L⁻¹ e condições aeróbias em reator em batelada com fluxo contínuo, indicando a sensibilidade das bactérias oxidadoras de amônia ao sulfeto. Em condições não aeradas, também foi observada uma diminuição na oxidação da amônia, de 72 para 64% quando a concentração de sulfeto foi 5,0 mg.L⁻¹. No presente estudo, a concentração mediana de sulfeto afluente aos biorreatores foi muito superior (30,0 mgS.L⁻¹) ao medido por aqueles autores, indicando potencial efeito inibitório na comunidade nitrificante. Segundo Sears *et al.* (2004), a inibição do sulfeto solúvel na nitrificação é reversível, quando há uma redução na concentração do composto tóxico, podendo ser recuperada após um período.

A toxicidade do sulfeto foi relacionada a um aumento no pH do meio (8,9), culminando com a formação de amônia livre por Moraes *et al.* (2013). Como na presente pesquisa o pH permaneceu próximo da neutralidade (de 7,0 a 7,3 em todas as fases), não pode ser associada uma possível toxicidade as bactérias oxidadoras de amônia por formação de amônia livre. A inibição causada pela insuficiência no OD é comumente reportada a valores menores que 0,5 mg.L⁻¹, levando a inibição principalmente de oxidadoras de nitrito (SCHMIDT *et al.*, 2003; ERGUDER *et al.*, 2008 *apud* MORAES *et al.*, 2013). Com isso, a ausência de atividade nitrificante pode estar relacionada principalmente à depleção de OD na presente pesquisa.

Moraes *et al.* (2013) ao investigarem a simultânea nitrificação/desnitrificação acoplada a oxidação do sulfeto em reator em batelada sequencial com AI, tratando efluente de reator UASB, observaram que a remoção completa do sulfeto culminou em ausência deste para desnitrificação autotrófica. Isto foi resultado da aeração do reator que promoveu a oxidação química a sulfato e/ou forneceu o oxigênio como acceptor de elétrons preferencial para os micro-organismos.

Como muitos estudos para avaliação da nitrificação associada à oxidação do sulfeto envolvem emprego de efluente sintético, as concentrações de amônia são comumente mais elevadas que as encontradas em esgoto doméstico real. Elevadas concentrações de nitrogênio amoniacal podem contribuir para maior atividade de oxidação da amônia e melhor adaptação à presença do sulfeto (MORAES *et al.*, 2013).

Com base nos resultados de compostos nitrogenados e de enxofre, bem como os dados medidos em sonda multiparamétrica, o desempenho dos biorreatores na Etapa 2 aponta para ausência de nitrificação e ocorrência de oxidação completa do sulfeto a sulfato. Como o histórico das pesquisas do nosso grupo e as análises feitas no presente trabalho (referentes à Etapa 1) confirmam que o sulfeto é removido neste sistema, os dados da Etapa 2 apontam que a AI e a cobertura não prejudicaram este processo. Análises complementares, de identificação da comunidade microbiana, seriam de fundamental importância para compreensão dos grupos envolvidos neste processo (e serão realizadas futuramente).

A ausência de nitrificação, sobretudo no reator inoculado, pode ter relação com alguns fatores como as concentrações de OD, presença de sulfeto e adaptação do inóculo. Embora dados da literatura apontem para possibilidade de nitrificação em baixas concentrações de OD como as observadas nesta pesquisa, mesmo quando o oxigênio está disponível na fase líquida, sua

concentração no biofilme (superfície externa e interna) pode ser menor (SANTOS *et al.*, 2018). A possível resistência da transferência de massa entre a fase líquida e o biofilme, associado à concentração de OD introduzida, a presença de meio suporte (causa resistência a distribuição das bolhas), podem ter ocasionado uma limitação no suprimento de oxigênio para os microrganismos nitrificantes.

A ocorrência de remoção de sulfeto em detrimento a de amônia pode ser, conforme apontado por Hatamoto *et al.* (2011), devido a limitação no suprimento de ar, ou seja, as bactérias disputaram pelo oxigênio disponível. Quando há limitação no OD, a oxidação da amônia é a primeira a cessar, seguida do metano e, posteriormente, do sulfeto. Uma das possíveis razões da sensibilidade para oxidação da amônia quando há limitação de oxigênio pode ser a baixa afinidade das bactérias oxidadoras de amônia e menor energia livre de Gibbs quando comparado a oxidação do acetato, propionato, metano e sulfeto. Sendo assim o crescimento microbiano se torna limitado e as BOA perdem na competição com os demais microrganismos. Além disso, conforme apresentado o sulfeto pode ocasionar toxicidade à comunidade microbiana, em especial àquela não adaptada a presença deste gás.

Com relação ao modo de alimentação dos reatores, os operados em batelada sequencial são normalmente usados para este processo e a alimentação intermitente em períodos anóxicos e descarte parcial do volume do reator podem melhorar a disponibilidade do sulfeto para desnitrificação autotrófica. A alimentação em batelada sequencial, além de favorecer a manutenção de substratos dentro do reator, melhora a distribuição dos doadores de elétrons e evita a inibição pelo substrato (MORAES *et al.*, 2013).

Contudo, modo de alimentação contínua já foi adotado por Silva *et al.* (2018) em reator de leito estruturado com AI e eficiente nitrificação, mas com recirculação do efluente. O modo de alimentação dos biorreatores do presente estudo (contínua) pode ter sido um fator adicional no que se refere a não remoção de compostos nitrogenados quando a aeração intermitente foi aplicada. A avaliação da comunidade microbiana seria fundamental para esclarecer se a eficiência do sistema esteve relacionada aos efeitos da aeração intermitente com alimentação contínua e ausência de luz.

Estudos com aeração intermitente e inoculação apontaram que a aeração contínua até a estabilização da nitrificação, antes de iniciar a AI, foi fundamental para eficiência do processo (MORAES *et al.*, 2013; SANTOS *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2018). No presente estudo, os

biorreatores foram operados desde o início da Etapa 2 com aeração em modo intermitente. Um melhor ajuste da taxa de ar e melhoria no pós-tratamento poderia ter sido obtido caso a operação se iniciasse com aeração contínua e concentração de OD ideal até a nitrificação se estabelecer. Ademais, o período de operação na etapa de aeração intermitente pode não ter permitido a estabilidade dos micro-organismos no sistema uma vez que as fases (ciclos de aeração) eram alteradas à medida em que não era observada remoção de amônia do efluente de reator UASB. Isto em especial para as bactérias anammox, cujo volume de inóculo foi bem inferior (50 mL) em relação ao volume total de inóculo (10 L); somado a isso as concentrações de amônia e nitrito estiveram baixas durante todo período operacional.

As concentrações de DQO ao longo da Etapa 2 iguais a 110,0, 106,0 e 88,5 mgDQO.L⁻¹ indicaram a remoção de matéria orgânica no pós-tratamento. Estes valores estão de acordo com a Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH nº 01/2008, do estado de Minas Gerais, que estabelece 180,0 mgDQO_T.L⁻¹ para sistemas de efluente sanitário. O fornecimento de oxigênio e as condições inerentes ao sistema permitem inferir que a degradação da matéria orgânica pode ter ocorrido por via biológica, a partir do metabolismo de diferentes grupos (aeróbios, desnitrificantes e/ou metanogênicos), e poderá ser comprovada a partir da análise da diversidade microbiana.

8 CONCLUSÕES GERAIS

- Em relação aos objetivos específicos 1 e 3:

Os resultados obtidos na Etapa 1 desta pesquisa apontaram que os biorreatores foram capazes de remover sulfeto e metano do efluente anaeróbio. A eficiência de remoção de metano foi significativamente maior no R-ar (55%) em relação ao R-controle (30%) da Fase 1 (TDH 6h) condizendo com maior abundância de bactérias metanotróficas (*Methylococcus* e *Methylocystis*).

Maior eficiência de remoção de sulfeto foi observada no R-ar (79%) na Fase 1 (TDH 6h), quando comparado ao R-controle (33%). Os resultados apontaram que a luz e a microaeração favoreceram a oxidação biológica do sulfeto no TDH 6h. Na Fase 2 (TDH 3h), o aumento da carga aplicada de sulfeto (152 g.m⁻³.d⁻¹) e possivelmente menor taxa de transferência de oxigênio resultaram em menor remoção de sulfeto, sendo a eficiência no R-controle igual a 22% e R-ar igual 33%.

O nitrogênio amoniacal não foi removido no pós-tratamento, em concordância com os resultados do SNG (não foram detectados grupos de bactérias nitrificantes em nenhuma das amostras e fases). As concentrações de oxigênio dissolvido não foram apropriadas para manter o metabolismo simultâneo dos grupos envolvidos na oxidação do metano, sulfeto e amônia.

Desta forma, não foi possível confirmar a hipótese de que a microaeração contínua e luz solar promovem remoção simultânea de metano, sulfeto (e formação de S^0) e nitrogênio amoniacal.

- Em relação ao objetivo específico 2:

Os ciclos adotados para aeração intermitente e as baixas concentrações de oxigênio dissolvido e/ou resistência na taxa de transferência não favoreceram a atividade dos micro-organismos nitrificantes. As condições operacionais não foram satisfatórias para os micro-organismos presentes no inóculo, composto por uma mistura de lodo ativado, lodo anaeróbico e biomassa com atividade anammox, indicando que estes não foram capazes de se adaptarem às condições testadas. Com isso, a hipótese de que a aeração intermitente resultaria em melhores eficiências de remoção de compostos nitrogenados e/ou sulfeto e metano no pós-tratamento do efluente de reator UASB foi refutada.

Em suma, os biorreatores do presente estudo nas condições testadas foram eficientes para remoção dos gases metano e sulfeto do efluente de reator UASB tratando esgoto doméstico. Contudo, para atender padrões de lançamento do efluente tratado requer melhoras na oxidação do sulfeto e, embora não apresente limite de lançamento para metano e para o nitrogênio amoniacal apenas para efluente industrial, o aprimoramento das estratégias operacionais é importante a fim de minimizar impactos ambientais.

9 RECOMENDAÇÕES

A partir dos resultados obtidos na presente pesquisa recomenda-se:

- Utilizar reatores que apresentem menor diâmetro e maior altura para melhorar a técnica de microaeração e incidência de luz solar para tratamento de efluentes. Dessa forma, a coluna de líquido mais alta permite uma taxa de transferência de oxigênio superior e a luz pode penetrar por toda extensão do reator.
- Avaliar taxas de ar superiores, na microaeração contínua, a fim de avaliar se nesta condição a eficiência geral do pós-tratamento aumenta.

- Investigar a remoção simultânea dos elementos estudados com inoculação de lodos ativados e anammox, maiores taxas de ar e períodos aerados superiores aos anóxicos.
- Após inoculação, e antes da partida do sistema, aplicar aeração contínua até estabelecimento da nitrificação.
- Inocular com maior volume de bactérias anammox, e em igual proporção a lodos ativados. Avaliar a atividade nitrificante e desnitrificante do lodo e biofilme dos anéis para avaliar se tais processos ocorrem no sistema empregado.

10 REFERÊNCIAS

- AHN, Y. H. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. *Process Biochemistry*, v.41, n.8, p.1709–1721, 2006.
- AIMEN, H.; KHAN, A.S.; KANWAL, N. Methanotrophs: The Natural Way to Tackle Greenhouse Effect. *Journal of Bioremediation & Biodegradation*, v.9, n.2, 2018.
- ALBERTO, M.C.R.; ARAH, J.R.M.; NEUE, H.U.; WASSMANN, R.; LANTIN, R.S.; ADUNA, J.B.; BRONSON, K.F. A sampling technique for the determination of dissolved methane in soil solution. *Chemosphere: Global Change Science*, v. 2, p. 57-63, 2000.
- ALLEGUE, T.; ARIAS, A.; FERNANDEZ-GONZALEZ, N.; OMIL, F.; GARRIDO, J.M. Enrichment of nitrite-dependent anaerobic methane oxidizing bacteria in a membrane bioreactor. *Chemical Engineering Journal*, v. 347, p.721–730, 2018.
- ALRASHED, W.; LEE, J.; PARK, J.; RITTMANN, B. E.; TANG, Y.; NEUFELD, J. D.; LEE, H. S. Hypoxic methane oxidation coupled to denitrification in a membrane biofilm. *Chemical Engineering Journal*, v.348, p.745–753, 2018.
- AN, J.Y.; KIM, B.W. Biological desulfurization in an optical-fiber photobioreactor using an automatic sunlight collection system. *Journal of Biotechnology*, v. 80, p. 35–44, 2000.
- APHA; AWWA; WEF. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20^a ed., Washington, 2012.
- AUGUSTO, M. R.; CAMILOTI, P. R.; SOUZA, T. S. O. Fast start-up of the single-stage nitrogen removal using anammox and partial nitritation (SNAP) from conventional activated sludge in a membrane-aerated biofilm reactor. *Bioresource Technology*, v.266, p.151–157, 2018.
- AZEVEDO, L. (2017). *Avaliação de reatores fototróficos e aeróbio na oxidação biológica de sulfeto*. Belo Horizonte, 2017, 127 p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.
- AZEVEDO, L.S.; CASTRO, I.M.P.; LEAL, C.D.; ARAÚJO, J.C. Performance and bacterial diversity of bioreactors used for simultaneous removal of sulfide, solids and organic matter from UASB reactor effluent. *Water Science and Technology*, v.78, n.6, p. 1312-1323, 2018.

BANDARA, W. M. K. R. T. W.; KINDAICHI, T.; SATOH, H., SASAKAWA, M.; NAKAHARA, Y.; TAKAHASHI, M.; OKABE, S. Anaerobic treatment of municipal wastewater at ambient temperature: Analysis of archaeal community structure and recovery of dissolved methane. *Water Research*, v.46, n.17, p. 5756-5764, 2012.

BELLUCCI, M.; OFITERU, I.D.; GRAHAM, D.W.; HEAD, I.M.; CURTIS, T.P. Low-Dissolved-Oxygen Nitrifying Systems Exploit Ammonia-Oxidizing Bacteria with Unusually High Yields. *Applied and Environmental Microbiology*, v.77, n.21, p.7787-7796, 2011.

BOETIUS, A.; RAVENSCHLAG, K.; SCHUBERT, C.J.; Rickert, D.; Widdel, F.; Gieseke, A.; AMANN, R.; JORGENSEN, B.B.; WITTE, U.; PFANNKUCHE, O. A marine microbial consortium apparently mediating anaerobic oxidation of methane. *Nature*, v. 407, p.623–626, 2000.

BOLYEN, E.; RIDEOUT, J. R., DILLON, M. R.; BOKULICH, N. A.; ABNET, C. C.; AL-GHALITH, G. A. *et al.* Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology*, v. 37, p.852–857, 2019.

BRASIL. Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Brasília: Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Brasil, 2005.

BRASIL. Resolução CONAMA nº 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Brasília: Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. Brasil, 2011.

BRASIL - Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental. Probiogás. Resultados do projeto de medições de biogás em reatores anaeróbios / Probiogás ; organizadores, Ministério das Cidades, Deutsche Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit GmbH (GIZ) ; autores, Carolina Cabral ... [et al.]. – Brasília, DF : Ministério das Cidades, 2016a, 130p.

BRASIL - Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental. Probiogás. Guia técnico sobre geração distribuída de energia elétrica por biogás em ETEs / Probiogás; organizadores, Ministério das Cidades, Deutsche Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit GmbH (GIZ); autores, Elson Costa Gomes ... [et al.]. – Brasília, DF : Ministério das Cidades, 2016b, 109p.

BRASIL - Secretaria Nacional de Saneamento Ambiental. Probiogás. Guia técnico de aproveitamento energético de biogás em estações de tratamento de esgoto / Probiogás; organizadores, Ministério das Cidades, Deutsche Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit GmbH (GIZ) ; autores, Bruno Silveira ... [et al.]. – Brasília, DF : Ministério das Cidades, 2015, 183 p.

BROCHIER-ARMANET, C.; BOUSSAU, B.; GRIBALDO, S.; FORTERRE, P. Mesophilic crenarchaeota: proposal for a third archaeal phylum, the Thaumarchaeota, *Nature Reviews Microbiology*, v.6, p.245-252, 2008 *apud* GARCIA, G. P. *Estudo do desempenho e da comunidade microbiana de biorreatores tratando efluente anaeróbico contendo sulfeto*. Belo

Horizonte, 2014, 136 p. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

BRODA, E. Two kinds of lithotrophs missing in nature. *Zeitschrift für Allgemeine Mikrobiologie*, v.17, p. 491-493, 1977.

CABRAL, C.S.; SANSON, A.L.; AFONSO, R.J.C.F.; CHERNICHARO, C.A.L.; ARAÚJO, J.C. Impact of microaeration bioreactor on dissolved sulfide and methane removal from real UASB effluent for sewage treatment. *Water Science & Technology*, v.81, p.1951-1960, 2020.

CAI, J.; ZHENG, P.; QAISAR, M.; LUO, T. Prediction and quantifying parameter importance in simultaneous anaerobic sulfide and nitrate removal process using artificial neural network. *Environmental Science and Pollution Research*, v.22, n.11, p.8272-8279, 2015.

CAI, J.; ZHENG, P.; QAISAR, M.; ZHANG, J. Elemental sulfur recovery of biological sulfide removal process from wastewater: A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v.3389, p.1-21, 2017.

CAMEJO, P. Y.; DOMINGO, J. S.; MCMAHON, K. D.; NOGUERA, D. R. Genome-Enabled Insights into the Ecophysiology of the Comammox Bacterium "*Candidatus Nitrospira nitrosa*". *Applied and Environmental Science*, v.2, p. 1–16, 2017.

CAMILOTI, P. R.; OLIVEIRA, G. H. D.; ZAIAT, M. Sulfur Recovery from Wastewater Using a Micro-aerobic External Silicone Membrane Reactor (ESMR). *Water, Air, and Soil Pollution*, v.227, p.1-10, 2016.

CAMILOTI, P. R.; VALDÉS, F.; DELFORNO, T. P.; BARTACEK, J.; ZAIAT, M.; JEISON, D. A membrane aerated biofilm reactor for sulfide control from anaerobically treated wastewater. *Environmental Technology (United Kingdom)*, v.40, n.18, p.1-10, 2018.

CANO, P. I.; COLÓN, J.; RAMÍREZ, M.; LAFUENTE, J.; GABRIEL, D.; CANTERO, D. Life cycle assessment of different physical-chemical and biological technologies for biogas desulfurization in sewage treatment plants. *Journal of Cleaner Production*, v.181, p.663-674, 2018.

CAPORASO, J. G.; LAUBER, C. L.; WALTERS, W. A.; BERG-LYONS, D.; LOZUPONE, C. A.; TURNBAUGH, P. J.; FIERER, N.; KNIGHT, R. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 108, n. Supplement_1, p. 4516-4522, 15 mar. 2011.

CARDOSO, R.; SIERRA-ALVAREZ, R.; ROWLETTE, P.; FLORES, E.; GÓMEZ, J.; FIELD, J. Sulfide oxidation under chemolithoautotrophic denitrifying conditions. *Wiley Periodicals*, v.95, p.1148-1157, 2006.

CHEN, C.; REN, N.; WANG, A.; LIU, L.; LEE, D. J. Enhanced performance of denitrifying sulfide removal process under micro-aerobic condition. *Journal of Hazardous Materials*, v.179, p.1147-1151, 2010.

CHEN, C.; LIU, L.; LEE, D.J.; GUI, W.; WANG, A.; XU, X.; ZHOU, X.; WU, D.; REN, N. Integrated simultaneous desulfurization and denitrification (ISDD) process at various COD/sulfate ratios. *Bioresource Technology*, v. 155, p.161–169, 2014.

CHEN, C.; XU, X.; XIE, P.; YUAN, Y.; ZHOU, X.; WANG, A.; LEE, D.J.; REN, N.Q.

Pyrosequencing reveals microbial community dynamics in integrated simultaneous desulfurization and denitrification process at different influent nitrate concentrations. *Chemosphere*, v.171, p.294-301, 2017.

CHEN, X.; GUO, J.; XIE, G. J.; LIU, Y.; YUAN, Z.; NI, B. J. A new approach to simultaneous ammonium and dissolved methane removal from anaerobic digestion liquor: A model-based investigation of feasibility. *Water Research*, v.85, p.295-303, 2015.

CHEN, X.; LIU, Y.; PENG, L.; YUAN, Z.; NI, B. J. Model-Based Feasibility Assessment of Membrane Biofilm Reactor to Achieve Simultaneous Ammonium, Dissolved Methane, and Sulfide Removal from Anaerobic Digestion Liquor. *Scientific Reports*, v.6, p.1-13, 2016.

CHERNICHARO, C. A. L. Post-treatment options for the anaerobic treatment of domestic wastewater. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, v.5, p.73-92, 2006.

CHERNICHARO, C. A. L.; LIER, J. B.; NOYOLA, A.; RIBEIRO, T. B. Anaerobic sewage treatment : state of the art , constraints and challenges. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, v. 14, n.4, p.649-679, 2015.

CHERNICHARO, C. A. L.; RIBEIRO, T.B.; PEGORINI, E.S.; POSSETTI, G.R.C.; MIKI, M.K.; SOUZA, S.N. Contribuição para o aprimoramento de projeto, construção e operação de reatores UASB aplicados ao tratamento de esgoto sanitário – Parte 1: Tópicos de Interesse (*Contribution for improving the design, construction and operation of UASB reactors treating sewage – Part 1: Topics of Interest*), *Revista DAE*, nota técnica, v.66, n.214, p.5-16, 2018a.

CHERNICHARO, C. A. L.; RIBEIRO, T.B.; GARCIA, G.B.; LERMONTOV, A.; PLATZER, C.J.; POSSETTI, G.R.C.; ROSSETO, M.L.L.R. Panorama do tratamento de esgoto sanitário nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil: tecnologias mais empregadas (*Overview of sewage treatment in the South, Southeast and Midwest regions of Brazil: most employed technologies*), *Revista DAE*, nota técnica, v.66, n.213, p. 5-19, 2018b.

CHERNICHARO, C. A. L. Princípio do tratamento biológico de águas residuárias - Vol. 5: Reatores anaeróbios. Departamento de engenharia sanitária e ambiental – UFMG, 2ª ed. Belo Horizonte, 2016. 379 p.

CHITAPORNAPAN, S.; CHIEMCHASRI, C., CHIEMCHASRI, W., HONDA, R.; YAMAMOTO, K. Organic carbon recovery and photosynthetic bacteria population in an anaerobic membrane photo-bioreactor treating food processing wastewater. *Bioresource Technology*, v.141, p.65-74, 2013.

CHUNG, W.J.; GRIEBEL, J.J.; KIM, E.T., YOON, H., SIMMONDS, A.G.; JI, H.J.; DIRLAM, P.T.; GLASS, R.S.; WIE, J.J., NGUYEN, N.A.; GURALNICK, B.W.; PARK, J.; SOMOGYI, Á.; THEATO, P.; MACKAY, M.E.; SUNG, Y.E.; CHAR, K.; PYUN, J. The use of elemental sulfur as an alternative feedstock for polymeric materials. *Nature Chemistry*, v. 5, n. 6, p. 518-524, 2013.

COOKNEY, J.; CARTMELL, E.; JEFFERSON, B.; MCADAM, E. J. Recovery of methane from anaerobic process effluent using poly-di-methyl-siloxane membrane contactors. *Water Science and Technology*, v. 65, n.4, p.604-610, 2012.

CORK, D.; MATHERS, J.; MAKI, A.; SRNAK, A. Control of oxidative sulfur Metabolism of *Chlorobium limicola* forma *thiosulfatophilum*. *Applied and Environmental Microbiology*, v.49, p.269-272, 1985.

COSTA, R.B.; OKADA, D.Y.; DELFORNO, T.P.; FORESTI, E. Methane-oxidizing archaea, aerobic methanotrophs and nitrifiers coexist with methane as the sole carbon source. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 138, p.57-62, 2019.

DAHL, C. Sulfur metabolism in phototrophic bacteria. In: *Modern Topics in the Phototrophic Prokaryotes*. Springer, p. 27-66, 2017.

DAIMS, H.; LEBEDEVA, E. V.; PJEVAC, P., HAN, P.; HERBOLD, C.; ALBERTSEN, M.; JEHLICH, N.; PALATINSZKY, M.; VIERHEILIG, J.; BULAEV, A.; KIRKEGAARD, R.H.; VON BERGEN, M.; RATTEI, T.; BENDINGER, B.; NIELSEN, P.H.; WAGNER, M. Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria. *Nature*, v.528, p.504-509, 2015.

DAUD, M. K.; RIZVI, H.; AKRAM, M. F.; ALI, S.; RIZWAN, M.; NAFEES, M.; JIN, Z. S. Review of upflow anaerobic sludge blanket reactor technology : effect of different parameters and developments for domestic wastewater treatment. *Journal of Chemistry*, v.18, p. 1-13, 2018.

DÍAZ, I.; PÉREZ, S. I.; FERRERO, E. M.; FDZ-POLANCO, M. (2011). Effect of oxygen dosing point and mixing on the microaerobic removal of hydrogen sulphide in sludge digesters. *Bioresource Technology*, v.102, p.3768-3775, 2011.

DING, C.; ENYI, F.O.; ADRIAN, L. Anaerobic Ammonium Oxidation (Anammox) with Planktonic Cells in a Redox-Stable Semicontinuous Stirred-Tank Reactor. *Environmental Science and Technology*, v.52, p.5671–5681, 2018.

DUANGMANEE, T.; KUMAR, S.; SUNG, S. Micro-aeration for sulfide removal in anaerobic treatment of high-solid wastewater: a pilot-scale study. *Proc Water Environ Fed*, v.16, p.2748–2760, 2007 *apud* KRAYZELOVA, L.; BARTACEK, J.; DIAZ, I.; JEISON, D.; VOLCKE, E. I. P.; JENICEK, P. Microaeration for hydrogen sulfide removal during anaerobic treatment : a review. *Environmental Science & Technology*, v.14, p.703-725, 2015.

ERGUDER, T.H.; BOON, N.; VLAEMINCK, S.E.; VERSTRAETE, W. Partial nitrification achieved by pulse sulfide doses in a sequential batch reactor. *Environmental Science and Technology*, v.42, n.23, p.8715–8720, 2008 *apud* MORAES, B.S.; ORRÚ, J.G.T.; FORESTI, E. Nitrogen and sulfide removal from effluent of UASB reactor in a sequencing fed-batch biofilm reactor under intermittent aeration. *Journal of Biotechnology*, v.164, p. 378-385, 2013.

ETTWIG, K. F.; VAN ALEN, T.; PAN-SCHOONEN, K.T.; JETTEN, M.S.M.; STROUS, M. Enrichment and Molecular Detection of Denitrifying Methanotrophic Bacteria of the NC10 Phylum. *Applied and Environmental Microbiology*, v.75, n.11, p. 3656-3662, 2009.

ETTWIG, K. F.; BUTLER, M. K.; LE PASLIER, D.; PELLETIER, E.; MANGENOT, S.; KUYPERS, M. M. M.; SCHREIBER, F.; DUTILH, B.E.; ZEDELIOUS, J.; DE BEER, D.; GLOERICH, J.; WESSELS, H.J.C.T.; VAN ALEN, T.; LUESKEN, F.; WUL, M.L.; VAN DE PAS-SCHOONEN, K.T.; OP DEN CAMP, H.J.M.; JANSSEN-MEGENS, E.M.; FRANCOIJS, K.J.; STUNNENBERG, H.; WEISSENBACH, J.; JETTEN, M.S.M.; STROUS, M. Nitrite-driven anaerobic methane oxidation by oxygenic bacteria. *Nature*, v.464, p.543-548, 2010.

FAJARDO, C.; MOSQUERA-CORRAL, A.; CAMPOS, J.L.; MÉNDEZ, R. Autotrophic denitrification with sulphide in a sequencing batch reactor. *Journal of Environmental Management*, v.113, p. 552-556, 2012.

FANG, H. H. P. Microbial distribution in UASB granules and its resulting effects. *Water Science and Technology*, v.42, p.201-208, 2000.

FERNÁNDEZ, N.; SIERRA-ALVAREZ, R.; FIELD, J. A.; AMILS, R.; SANZ, J. L. Microbial community dynamics in a chemolithotrophic denitrification reactor inoculated with methanogenic granular sludge. *Chemosphere*, v.70, n.3, p.462-474, 2008.

FERRER, M.; GUAZZARONI, M.-E.; RICHTER, M.; GARCÍA-SALAMANCA, A.; YARZA, P.; SUÁREZ-SUÁREZ, A.; SOLANO, J.; ALCAIDE, M.; DILLEWIJN, P. V.; MOLINA-HENARES, M. A.; LÓPEZ-CORTÉS, N.; AL-RAMAHI, Y.; GUERRERO, C.; ACOSTA, A.; EUGENIO, L. I. D.; MARTÍNEZ, V.; MARQUES, S.; ROJO, F.; SANTERO, E.; GENILLOUD, O.; PÉREZ-PÉREZ, J.; ROSSELLÓ-MÓRA, R.; RAMOS, J. L. Taxonomic and Functional Metagenomic Profiling of the Microbial Community in the Anoxic Sediment of a Sub-saline Shallow Lake (Laguna de Carrizo, Central Spain). *Microbial Ecology*, v. 62, n. 4, p. 824-837, 2011

FITZGERALD, C. M.; CAMEJO, P.; OSHLAG, J. Z.; NOGUERA, D. R. Ammonia-oxidizing microbial communities in reactors with efficient nitrification at low-dissolved oxygen. *Water Research*, v.70, p.38-51, 2015.

FORESTI, E.; ZAIAT, M.; VALLERO, M. Anaerobic processes as the core technology for sustainable domestic wastewater treatment: Consolidated applications, new trends, perspectives, and challenges, *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, v.5, p.3-19, 2006.

GARCIA, G. P. *Estudo do desempenho e da comunidade microbiana de biorreatores tratando efluente anaeróbio contendo sulfeto*. Belo Horizonte, 2014, 136 p. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

GARCIA, G. P.P.; DINIZ, R. C.; BICALHO, S. K.; FRANCO, V. A.; GONTIJO, E. M.O.; TOSCANO, R. A.; CANHESTROA, K.O.; SANTOS, M.R.; CARMOA, A.R.D.; LOBATO, L.C.; BRANDT, E.M.; CHERNICHARO, C.A.L.; ARAÚJO, J.C. Biological sulphide removal from anaerobically treated domestic sewage: reactor performance and microbial community dynamics. *Environmental Technology*, v. 36, n.17, p.2177-2189, 2015.

GARCIA, G.P.P.; DINIZ, R.C.O.; BICALHO, S.K.; FRANCO, V.; PEREIRA, A.D.; BRANDT, E.F.; ETCHEBEHERE, C.; CHERNICHARO, C.A.L.; ARAÚJO, J.C. Microbial community and sulphur behaviour in phototrophic reactors treating UASB effluent under different operational conditions. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v.119, p.486-498, 2017.

GHOSH, W.; DAM, B. Biochemistry and molecular biology of lithotrophic sulfuroxidation by taxonomically and ecologically diverse bacteria and archaea. *FEMS Microbiol Rev*, v.33, p.999-1043, 2009.

GILBERT, E. M.; AGRAWAL, S.; BRUNNER, F.; SCHWARTZ, T.; HORN, H.; LACKNER, S. Response of different Nitrospira Species to anoxic periods depends on operational DO. *Environmental Science and Technology*, v.48, p.2934-2941, 2014.

GLÓRIA, R.; MOTTA, T.; SILVA, P.; COSTA, P.; BRANDT, E.; SOUZA, C.; CHERNICHARO, C. Stripping and Dissipation Techniques for the Removal of Dissolved Gases From Anaerobic Effluents. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v.33, n.04,

p.713-721, 2016.

GONCHARUK, V.V.; BAGRII, V.A.; MEL'NIK, L.A.; CHEBOTAREVA, R.D.;BASHTAN, S.Y. The use of redox potential in water treatment processes. *JWater Chem Technol*, v. 32, p.1–9, 2010 *apud* SANTOS, C.E.D.; GUERRERO, R.B.S.; GODOI, L.A.G.; FORESTI, E.; DAMIANOVIC, M.H.R.Z. Dynamics of the nitrification and sulfide-driven autotrophic denitrification processes in a single reactor using oxidation–reduction potential as an indicator of the process effectiveness. *J Chem Technol Biotechnol*, v.93, p.3483-3491, 2018.

GUERRERO, L.; MONTALVO, S.; HUILÍNIR, C.; CAMPOS, J.; BARAHONA, A.; BORJA, R. Advances in the biological removal of sulphides from aqueous phase in anaerobic processes : A review. *Environmental Review*, v. 24, n.1, p.84-100, 2015.

GUILFORD, N. G. H.; LEE, H. P.; KANGER, K.; MEYER, T.; EDWARDS, E. A. Solid-State Anaerobic Digestion of Mixed Organic Waste: The Synergistic Effect of Food Waste Addition on the Destruction of Paper and Cardboard. *Environmental Science and Technology*, v.53, p.12677-12687, 2019.

GUO, Q.; JIN, R.C. Towards simultaneously removing nitrogen and sulfur by a novel process: Anammox and Autotrophic Desulfurization-Denitrification (AADD). *Chemical Engineering Journal*, v. 297, p. 207-216, 2016.

GUPTA, S. K.; KUMARI, S.; REDDY, K.; BUX, F. Trends in biohydrogen production: Major challenges and state-of-the-art developments. *Environmental Technology*, v.34, n.13-14, p.1653-1670, 2013.

HANSON, R. S.; HANSON, T. E. Methanotrophic bacteria. *Microbiological Reviews*, v.60, n.2, p.439-471, 1996.

HARTLEY, K.; LANT, P. Eliminating Non-Renewable CO₂ Emissions From Sewage Treatment: An Anaerobic Migrating Bed Reactor Pilot Plant Study. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 95, n. 3, p.384-398, 2006.

HATAMOTO, M.; YAMAMOTO, H.; KINDAICHI, T.; OZAKI, N. Biological oxidation of dissolved methane in effluents from anaerobic reactors using a down-flow hanging sponge reactor. *Water Research*, v. 44, p.1409-1418, 2010.

HATAMOTO, M.; MIYAUCHI, T.; KINDAICHI, T.; OZAKI, N.; OHASHI, A. Dissolved methane oxidation and competition for oxygen in down-flow hanging sponge reactor for post-treatment of anaerobic wastewater treatment. *Bioresource Technology*, v. 102, p.10299-10304, 2011.

HE, Z.; CAI, C.; GENG, S.; LOU, L.; XU, X.; ZHENG, P.; HU, B. Modeling a nitrite-dependent anaerobic methane oxidation process: parameters identification and model evaluation. *Bioresour. Technol.*, v.147, p.315-320, 2013 *apud* WANG, D.; WANG, Y.; LIU, Y.; NGO, H.H.; LIAN, Y.; ZHAO, J.; CHEN, F.; YANG, Q.; ZENG, G.; LI, X. Is denitrifying anaerobic methane oxidation-centered technologies a solution for the sustainable operation of wastewater treatment Plants? *Bioresource Technology*, v. 234, p. 456-465, 2017.

HENSHAW, P. F.; BEWTRA, J. K.; BISWAS, N. Hydrogen sulphide conversion to elemental sulphur in a suspended-growth continuous stirred tank reactor using *Chlorobium limicola*. *Water Research*, v.32, n. 6, p. 1769-1778, 1998.

- HU, S.; ZENG, R. J.; BUROW, L. C.; LANT, P.; KELLER, J.; YUAN, Z. Enrichment of denitrifying anaerobic methane oxidizing microorganisms, *Environmental Microbiology Reports*, v.1, p.377-384, 2009.
- HU, S.; ZENG, R.J.; HAROON, M.F.; KELLER, J.; LANT, P.A.; TYSON, G.W.; YUAN, Z. A laboratory investigation of interactions between denitrifying anaerobic methane oxidation (DAMO) and anammox processes in anoxic environments. *Scientific Reports*, v.5, p.1-9, 2015.
- HU, H.; HE, J. Comammox — a newly discovered nitrification process in the terrestrial nitrogen cycle, *J Soils Sediments*, v.17, p.2709-2717, 2017.
- HUANG, C.; LIU, Q.; CHEN, C.; CHEN, F.; ZHAO, Y. K.; GAO, L. F.; LIUB, W.Z.; ZHOUC, J.Z.; LI, Z.L.; WANG, A. J. Elemental sulfur recovery and spatial distribution of functional bacteria and expressed genes under different carbon/nitrate/sulfide loadings in up-flow anaerobic sludge blanket reactors. *Journal of Hazardous Materials*, v.324, p.48-53, 2017.
- HUANG, C.; ZHAO, Y.; LI, Z.; YUAN, Y.; CHEN, C.; TAN, W.; GAO, S.; GAO, L.; ZHOU, J.; WANG, A. Enhanced elementary sulfur recovery with sequential sulfate-reducing, denitrifying sulfide-oxidizing processes in a cylindrical-type anaerobic baffled reactor. *Bioresource Technology*, v.192, p.478-485, 2015.
- HUETE, A.; COBOS-VASCONCELOS, D.; GÓMEZ-BORRAZ, T.; MORGAN-SAGASTUME, J. M.; NOYOLA, A. Control of dissolved CH₄ in a municipal UASB reactor effluent by means of a desorption – Biofiltration arrangement. *Journal of Environmental Management*, v.216, p.383-391, 2018.
- HULSEN, T.; BARRY, E. M.; LU, Y. PUYOL, D.; KELLER, J.; BATSTONE, D. J. Domestic wastewater treatment with purple phototrophic bacteria using a novel continuous photo anaerobic membrane bioreactor. *Water Research*, v.100, p.486-495, 2016.
- HULSHOFF POL, L.W.; LENS, P.N.L.; STAMS, A.J.M.; LETTINGA, G. Anaerobic treatment of sulphate-rich wastewaters. *Biodegradation*, v. 9, p. 213–224, 1998.
- HURSE, T.J.; KAPPLER, U.; KELLER, J. 2008. Using anoxygenic photosynthetic bacteria for the removal of sulfide from wastewater. Sulfur metabolism in phototrophic organisms p.437-460, 2008 *apud* LIN, S.; MACKAY, H. R.; HAO, T.; GUO, G.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; CHEN, G. Biological sulfur oxidation in wastewater treatment: A review of emerging opportunities. *Water Research*, v. 143, p.399-415, 2018.
- HURSE, T.J; KELLER, J. Performance of a Substratum-Irradiated Photosynthetic Biofilm Reactor for the Removal of Sulfide From Wastewater. *Biotechnology and Bioengineering*, v.87, p.14-23, 2004.
- IMHOFF, J.F.; HIRAISHI, A.; SULING, J. Anoxygenic Phototrophic Purple Bacteria. In: Brenner D.J., Krieg N.R., Staley J.T., Garrity G.M. (eds) *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology*. Springer, Boston, MA, p. 119-132, 2005.
- IPCC - Intergovernmental Panel on Climate Change. Synthesis Report. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 2013.
- JAGERSMA, G. C.; MEULEPAS, R. J. W.; JONG, I. H.; GIETELING, J.; KLIMIUK, A.; SCHOUTEN, S.; DAMSTÉ, J.S.; LENS, P.N.L.; STAMS, A.J.M. Microbial diversity and

community structure of a highly active anaerobic methane-oxidizing sulfate-reducing enrichment, *Environmental Microbiology*, v. 11, n.12, p.3223-3232, 2009.

JANSSEN, A. J. H.; SLEYSER, R.; VAN DER KAA, C.; JOCHEMSEN, A.; BONTSEMA, J.; LETTINGA, G. Biological sulphide oxidation in a fed-batch reactor. *Biotechnology and Bioengineering*, v.47, n.3, p.327-333, 1995.

JENICEK, P.; KOUBOVA, J.; BINDZAR, J.; ZABRANSKA, J. Advantages of anaerobic digestion of sludge in microaerobic conditions. *Water Science and Technology*, v.62, 2010.

KEENE, N. A.; REUSSER, S. R.; SCARBOROUGH, M. J.; GROOMS, A. L.; SEIB, M.; SANTO DOMINGO, J.; NOGUERA, D. R. Pilot plant demonstration of stable and efficient high rate biological nutrient removal with low dissolved oxygen conditions. *Water Research*, v.121, p.72-85, 2017.

KHAN, A. A., GAUR, R. Z., LEW, B., MEHROTRA, I., & KAZMI, A. A. Effect of Aeration on the Quality of Effluent from UASB Reactor Treating Sewage. *Journal of Environmental Engineering*, 137, p.464–471, 2011.

KHAN, A.; GAUR, R.; TYAGI, V.; KHURSHEED, A.; LEW, B.; MEHROTRA, I.; KAZMI, A. Sustainable options of post treatment of UASB effluent treating sewage: A review. *Resources, Conservation & Recycling*, v.55, p.1232-1251, 2011.

KHANAL, S. K.; HUANG, J.; ASCE, F. Anaerobic Treatment of High Sulfate Wastewater with Oxygenation to Control Sulfide Toxicity. *Environmental Engineering*, v.129, p.1104-1111, 2003.

KITS, K.D.; KLOTZ, M.G.; STEIN, L.Y. Methane oxidation coupled to nitrate reduction under hypoxia by the Gammaproteobacterium *Methylomonas denitrificans*, sp. nov. type strain FJG1. *Environmental Microbiology*, v. 17, n.9, p.3219-3232, 2015.

KNIEF, C. Diversity and Habitat Preferences of Cultivated and Uncultivated Aerobic Methanotrophic Bacteria Evaluated Based on *pmoA* as Molecular Marker. *Frontiers in Microbiology*, v.6, p.1-38, 2015.

KNITTEL, K.; BOETIUS, A. Anaerobic Oxidation of Methane: Progress with an Unknown Process. *Annual Review Microbiology*, v. 63, p.311–334, 2009.

KOBAYASHI, T.; LI, Y. Y.; KUBOTA, K.; HARADA, H.; MAEDA, T.; YU, H. Q. Characterization of sulfide-oxidizing microbial mats developed inside a full-scale anaerobic digester employing biological desulfurization. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.93, p.847-857, 2012.

KRAYZELOVA, L.; BARTACEK, J.; DIAZ, I.; JEISON, D.; VOLCKE, E. I. P.; JENICEK, P. Microaeration for hydrogen sulfide removal during anaerobic treatment: a review. *Environmental Science & Technology*, v.14, p.703-725, 2015.

KRAYZELOVA, L.; BARTACEK, J.; KOLESAROVA, N.; JENICEK, P. Microaeration for hydrogen sulfide removal in UASB reactor. *Bioresource Technology*, v. 172, p.297-302, 2014.

LAUREN, N.R.; WATKINSON, J.H. Elemental sulphur analysis using high-performanceliquid chromatography on 10- μ m rigid polymer particles. *Journal of Chromatography*, Amsterdam, v. 348, p. 317-320, 1985.

- LECLERC, M.; DELGÈNES, J. P.; GODON, J. J. Diversity of the archaeal community in 44 anaerobic digesters as determined by single strand conformation polymorphism analysis and 16S rDNA sequencing. *Environmental Microbiology*, v. 6, n. 8, p. 809-819, 2004.
- LIN, S.; MACKEY, H. R.; HAO, T.; GUO, G.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; CHEN, G. Biological sulfur oxidation in wastewater treatment: A review of emerging opportunities. *Water Research*, v. 143, p.399-415, 2018.
- LIU, W.; LIANG, C.; CHEN, J.; ZHU, L. Effect of operating parameters on sulfide biotransformation to sulfur. *Journal of Environmental Sciences*, v.25, n.12, p.2417-2421, 2013.
- LIU, G.; WANG, J. Long-Term Low DO Enriches and Shifts Nitrifier Community in Activated Sludge. *Environmental Science and Technology*, v.47, p.5109-5117, 2013.
- LU, H.; HAN, T.; ZHANG, G.; MA, S.; ZHANG, Y.; LI, B.; CAO, W. Natural light-micro aerobic condition for PSB wastewater treatment: a flexible, simple, and effective resource recovery wastewater treatment process. *Environmental Technology*, v.39, n.1, p.1-9, 2017.
- LU, H.; ZHANG, G.; DAI, X.; SCHIDEMAN, L.; ZHANG, Y.; LI, B.; WANG, H. A novel wastewater treatment and biomass cultivation system combining photosynthetic bacteria and membrane bioreactor technology. *Desalination*, v.322, p.176-181, 2013.
- LU, H.; ZHANG, G.; ZHENG, Z.; MENG, F.; DU, T.; HE, S. Bio-conversion of photosynthetic bacteria from non-toxic wastewater to realize wastewater treatment and bioresource recovery: A review. *Bioresource Technology*, v.278, p.383-399, 2019.
- LUO, G.; JOHANSSON, S.; BOE, K.; XIE, L.; ZHOU, Q.; ANGELIDAKI, I. Simultaneous hydrogen utilization and in situ biogas upgrading in an anaerobic reactor. *Biotechnology and Bioengineering*, v.109, n. 4, p.1088-1094, 2012.
- MA, B.; BAO, P.; WEI, Y.; ZHU, G.; YUAN, Z.; PENG, Y. Nitrogen Removal from Domestic Wastewater via Anammox Using Intermittent Aeration with Low Dissolved Oxygen. *Scientific Reports*, v.5, p.1-9, 2015.
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. *Microbiologia de Brock*. 12a ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 1128 p.
- MAHMOOD, Q.; ZHENG, P.; CAI, J.; HAYAT, Y.; HASSAN, M. J.; WU, D.; HU, B. Sources of sulfide in waste streams and current biotechnologies for its removal. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE A*, v.8, p.1126-1140, 2007.
- MAHMOOD, Q.; ZHENG, P.; CAI, J.; WU, D.; HU, B.; ISLAM, E.; RASHID AZIM, M. Comparison of anoxic sulfide biooxidation using nitrate/nitrite as electron acceptor. *Environ. Prog. Sustain. Energy*, v. 26, p.169-177, 2007 *apud* LIN, S.; MACKEY, H. R.; HAO, T.; GUO, G.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; CHEN, G. Biological sulfur oxidation in wastewater treatment: A review of emerging opportunities. *Water Research*, v.143, p.399-415, 2018.
- MARAZIOTI, C.; KORAROS, M.; LYBERATOS, G. Kinetic modeling of a mixed culture of *Pseudomonas Denitrificans* and *Bacillus subtilis* under aerobic and anoxic operating conditions. *Water Research*, v.37, n.6, p.1239-1251, 2003.
- MATSUURA, N.; HATAMOTO, M.; SUMINO, H.; SYUTSUBO, K. Recovery and biological oxidation of dissolved methane in effluent from UASB treatment of municipal sewage using a two-stage closed down flow hanging sponge system. *Journal of Environmental Management*,

v. 151, p.200-209, 2015.

MATSUURA, N.; HATAMOTO, M.; YAMAGUCHI, T.; OHASHI, A. Methanotrophic community composition based on pmoA genes in dissolved methane recovery and biological oxidation closed downflow hanging sponge reactors. *Biochemical Engineering Journal*, v.124, p.138-144, 2017.

MENG, F.; YANG, A.; ZHANG, G.; WANG, H. Effects of dissolved oxygen concentration on photosynthetic bacteria wastewater treatment: Pollutants removal, cell growth and pigments production. *Bioresource Technology*, v. 241, p. 993-997, 2017.

MEULEPAS, R.J.W.; STAMS, A.J.M.; LENS, P.N.L. Biotechnological aspects of sulfate reduction with methane as electron donor. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, v.9, p.59-78, 2010.

MIAO, Y.; PENG, Y.; ZHANG, L.; LI, B.; LI, X.; WU, L.; WANG, S. Partial nitrification-anammox (PNA) treating sewage with intermittent aeration mode: Effect of influent C/N ratios. *Chemical Engineering Journal*, v.334, p. 664-672, 2018.

MINAS GERAIS. Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH-MG nº 1, de 5 de Maio de 2008. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Belo Horizonte: Conselho de Política Ambiental de Minas Gerais – COPAM e Conselho Estadual de Recursos Hídricos – CERH, 2008.

MIDHA, V.; JHA, M. K.; DEY, A. Sulfide oxidation in fluidized bed bioreactor using nylon support material. *Journal of Environmental Sciences*, v.24, n.3, p.512-519, 2012.

MOGHANLOO, G. M. M.; FATEHIFAR, E.; SAEDY, S.; AGHAEIFA, Z.; ABBASNEZHAD, H. Biological oxidation of hydrogen sulfide in mineral media using a biofilm airlift suspension reactor. *Bioresource Technology*, v.101, n.21, p.8330-8335, 2010.

MORAES, B.S.; ORRÚ, J.G.T.; FORESTI, E. Nitrogen and sulfide removal from effluent of UASB reactor in a sequencing fed-batch biofilm reactor under intermittent aeration. *Journal of Biotechnology*, v.164, p. 378-385, 2013.

MULDER, A.; GRAAF, A. A. VAN DE; ROBERTSON, L. A.; KUENEN, J. G. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 16, p. 177-184, 1995.

NGHIEM, L. D.; MANASSA, P.; DAWSON, M.; FITZGERALD, S. K. Oxidation reduction potential as a parameter to regulate micro-oxygen injection into anaerobic digester for reducing hydrogen sulphide concentration in biogas. *Bioresource Technology*, v.173, p.443-447, 2014.

NI, S.Q.; ZHANG, J. Anaerobic Ammonium Oxidation: From Laboratory to Full-Scale Application. *BioMed Research International*, v.2013, p.1-10, 2013.

NOYOLA, A.; MORGAN-SAGASTUME, J. M.; LÓPEZ-HERNÁNDEZ, J. E. Treatment of biogas produced in anaerobic reactors for domestic wastewater: Odor control and energy/resource recovery. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, v.5, n.1, p.93-114, 2006.

OH, S. E.; YOO, Y. B.; YOUNG, J. C.; KIM, I. S. Effect of organics on sulfur-utilizing autotrophic denitrification under mixotrophic conditions. *Journal of Biotechnology*, v. 92, n. 1,

p. 1–8, 2001.

PANTOJA-FILHO, L.R.; DAMIANOVIC, M.H.R.Z.; FONSECA, D.F.; FORESTI, E. Nitrogen and residual organic matter removal from anaerobic reactor effluent in a fixed-bed reactor with biogas for denitrification. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v.90, p. 2227–2233, 2014.

PELÁZ, L.; GÓMEZ, A.; GARRALÓN, G.; LETONA, A.; FDZ-POLANCO, M. Bioresource Technology Denitrification of the anaerobic membrane bioreactor (AnMBR) effluent with alternative electron donors in domestic wastewater treatment. *Bioresource Technology*, v.243, p.1173-1179, 2017.

PEREIRA, A.D.; CABEZAS, A.; ETCHEBEHERE, C.; CHERNICHARO, C.A.L.; ARAÚJO, J.C. Microbial communities in anammox reactors: a review. *Environmental Technology Reviews*, v.6, n.1, p.74-93, 2017.

PÉREZ, J.; LOTTI, T.; KLEEREBEZEM, R.; PICIOREANU, C.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Outcompeting nitrite-oxidizing bacteria in single-stage nitrogen removal in sewage treatment plants: A model-based study. *Water Research*, v.66, p.208-218, 2014.

PIKAAR, I.; SHARMA, K. R.; HU, S.; GERNJAK, W.; KELLER, J.; YUAN, Z. Reducing sewer corrosion through integrated urbanwater management. *Science*, v. 345, n.6198, p.812-814, 2014.

PLAS, C.; HARANT, H.; DANNER, H.; JELINEK, E.; WIMMER, K.; HOLUBAR, P.; BRAUN, R. Ratio of biological and chemical oxidation during the aerobic elimination of sulphide by colourless sulphur bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.36, p. 817-822, 1992.

POKORNA, D.; ZABRANSKA, J. Sulfur-oxidizing bacteria in environmental technology. *Biotechnology Advances*, v.33, n.6, p. 1246-1259, 2015.

QIU, S.; HU, Y.; LIU, R.; SHENG, X.; CHEN, L.; WU, G.; HU, H.; ZHAN, X. Start up of partial nitrification-anammox process using intermittently aerated sequencing batch reactor: Performance and microbial community dynamics. *Science of the Total Environment*, v. 647, p. 1188-1198, 2019.

RAGHOEBARSING, A.A.; POL, A.; VAN DE PAS-SCHOONEN, K.T.; SMOLDERS, A.J.P.; ETTWIG, K.F.; RIJPSTRA, W.I.C.; SCHOUTEN, S.; DAMSTE, J.S.S.; OP DEN CAMP, H.J.M.; JETTEN, M.S.M.; STROUS, M. A microbial consortium couples anaerobic methane oxidation to denitrification. *Nature*, v.440, p.918-921, 2006.

RAMOS, I.; PÉREZ, R.; FDZ-POLANCO, M. Microaerobic desulphurisation unit: A new biological system for the removal of H₂S from biogas. *Bioresource Technology*, v.142, p. 633-640, 2013.

RICKARD, D.; LUTHER, G. W. Chemistry of Iron Sulfides. *Chemical Reviews*, v. 107, p.514-562, 2007.

RIVIERE, D.; DESVIGNES, V.; PELLETIER, E.; CHAUSSONNERIE, S.; GUERMAZI, S.; WEISSENBACH, J.; LI, T.; CAMACHO, P.; SGHIR, A. Towards the definition of a core of microorganisms involved in anaerobic digestion of sludge. *The ISME Journal*, v. 3, p. 700–714,

2009.

SANTOS, C.E.D.; GUERRERO, R.B.S.; GODOI, L.A.G.; FORESTI, E.; DAMIANOVIC, M.H.R.Z. Dynamics of the nitrification and sulfide-driven autotrophic denitrification processes in a single reactor using oxidation–reduction potential as an indicator of the process effectiveness. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v.93, p.3483-3491, 2018.

SANTOS, C. E. D.; MOURA, R. B.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; FORESTI, E. Influence of COD/N ratio and carbon source on nitrogen removal in a structured-bed reactor subjected to recirculation and intermittent aeration (SBRRIA). *Journal of Environmental Management*, v. 166, p. 519–524, 2016.

SCHMIDT, I.; SLIEKERS, O.; Schmid, M.; Bock, E.; Fuerst, J.; Kuenen, J.G.; Jetten, M.S.M.; Strous, M. New concepts of microbial treatment processes for the nitrogen removal in wastewater. *FEMS Microbiology Review*, v.27, n.4, 481–492, 2003 *apud* MORAES, B.S.; ORRÚ, J.G.T.; FORESTI, E. Nitrogen and sulfide removal from effluent of UASB reactor in a sequencing fed-batch biofilm reactor under intermittent aeration. *Journal of Biotechnology*, v.164, p. 378-385, 2013.

SCHUBERT, C. J.; DURISCH-KAISER, E.; WEHRLI, B.; THAMDRUP, B.; LAM, P.; KUYPERS, M. M. M. Anaerobic ammonium oxidation in a tropical freshwater system (Lake Tanganyika). *Environmental Microbiology*, v. 8, p. 1857–1863, 2006.

SEARS, K.; ALLEMAN, J.E.; BARNARD, J.L.; OLESZKIEWICZ, J.A. Impacts of reduced sulfur components on active and resting ammonia oxidizers. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, v.31, p.369-378, 2004.

SEMRAU, J.D.; DISPIRITO, A.A.; YOON, S. Methanotrophs and copper. *FEMS Microbiology Reviews*, v. 34, p. 496-531, 2010.

SEMRAU, J.D.; DISPIRITO, A.A.; VUILLEUMIER, S. Facultative methanotrophy: false leads, true results, and suggestions for future research. *FEMS Microbiology Letters*, v.323, n.1, p.1-12, 2011.

SILVA, B.G.; DAMIANOVIC, M.H.R.Z.; FORESTI, E. Effects of intermittent aeration periods on a structured-bed reactor continuously fed on the post-treatment of sewage anaerobic effluent. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, v.41, n.8, p. 1115-1120, 2018.

SILVA-TEIRA, A.; SÁNCHEZ, A.; BUNTNER, D.; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, L.; GARRIDO, J. M. Removal of dissolved methane and nitrogen from anaerobically treated effluents at low temperature by MBR post-treatment. *Chemical Engineering Journal*, v. 326, p.970-979, 2017.

SINISCALCHI, L.A.B.; LEITE, L.R.; OLIVEIRA, G.; CHERNICHARO, C.A.L.; ARAÚJO, J.C. Illumina sequencing-based analysis of a microbial community enriched under anaerobic methane oxidation condition coupled to denitrification revealed coexistence of aerobic and anaerobic methanotrophs. *Environ Science and Pollution Research*, v. 24, p.16751–16764, 2017.

SOUSA, J. T.; LIMA, J. D. F.; CORDEIRO, V.; LEITE, V. D.; LOPES, W. S. Recovery of elemental sulphur from anaerobic effluents through the biological oxidation of sulphides. *Environmental Technology*, v.38, p.529-537, 2017.

- SOUSA, M. R.; OLIVEIRA, C. J. S.; LOPES, A. C.; RODRÍGUEZ, E. R.; HOLANDA, G. B. M.; LANDIM, P. G. C.; FIRMINO, P.I.M.; SANTOS, A. B. Technical, Economical, and Microbiological Aspects of the Microaerobic Process on H₂S Removal for Low Sulfate Concentration Wastewaters. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.180, p.1386-1400, 2016.
- SOUZA, C. L. (2010). *Estudo Das Rotas De Formação, Transporte E Consumo Dos Gases Metano E Sulfeto De Hidrogênio*. Belo Horizonte, 2010, 147 p., Tese (Doutorado). Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.
- SOUZA, C. L.; CHERNICHARO, C. A. L.; AQUINO, S. F. Quantification of dissolved methane in UASB reactors treating domestic wastewater under different operating conditions. *Water Science and Technology*, v.64, n.11, p.2259-2264, 2011.
- SOUZA, C. L.; CHERNICHARO, C. A. L.; MELO, G. C. B. Methane and hydrogen sulfide emissions in UASB reactors treating domestic wastewater. *Water Science and Technology*, v.65, n. 7, p.1229-1237, 2012.
- SPAIN, A.M.; KRUMHOLZ, L.R.; ELSHAHED, M.S. Abundance, composition, diversity and novelty of soil *Proteobacteria*. *International Society for Microbial Ecology*, v.3, p.992-1000, 2009.
- STAZI, V.; TOMEI, M. C. Science of the Total Environment Enhancing anaerobic treatment of domestic wastewater: State of the art, innovative technologies and future perspectives, *Science of the Total Environment*, v. 635, p.78-91, 2018.
- STRONG, P.J.; XIE, S.; CLARKE, W.P. Methane as a Resource: Can the Methanotrophs Add Value? *Environmental Science and Technology*, v.49, p. 4001-4018, 2015.
- SUN, Y.; GUAN, Y.; WANG, H.; WU, G. Autotrophic nitrogen removal in combined nitrification and Anammox systems through intermittent aeration and possible microbial interactions by quorum sensing analysis. *Bioresource Technology*, v.272, p. 146-155, 2019.
- TANG, K.; BASKARAN, V.; NEMATI, M. Bacteria of the sulphur cycle: An overview of microbiology, biokinetics and their role in petroleum and mining industries. *Biochemical Engineering Journal*, v.44, n.1, p.73-94, 2009.
- THAUER, R.K. Anaerobic oxidation of methane with sulfate: on the reversibility of the reactions that are catalyzed by enzymes also involved in methanogenesis from CO₂. *Current Opinion in Microbiology*, v.14, p.292-299, 2011.
- TIMMERS, P.H.A.; WELTE, C.U.; KOEHORST, J.J.; PLUGGE, C.M.; JETTEN, M.S.M.; STAMS, A.J.M. Reverse Methanogenesis and Respiration in Methanotrophic Archaea. *Archaea*, v. 2017, p.1-22, 2017.
- VALDÉS, F.; CAMILOTI, P. R.; RODRIGUEZ, R. P.; DELFORNO, T. P.; CARRILLO-REYES, J.; ZAIAT, M.; JEISON, D. Sulfide-oxidizing bacteria establishment in an innovative microaerobic reactor with an internal silicone membrane for sulfur recovery from wastewater. *Biodegradation*, v.27, p.119-130, 2016.
- VAN KESSEL, M. A. H. J.; SPETH, D. R., ALBERTSEN, M.; NIELSEN, P. H.; OP DEN CAMP, H. J. M.; KARTAL, B., JETTEN, M.S.M.; LÜCKER, S. Complete nitrification by a single microorganism. *Nature*, v.528, p.555-559, 2015.

VAN KESSEL, M.A.H.J.; STULTIENS, K.; SLEGGERS, M.F.W.; CRUZ, S.G.; JETTEN, M.S.M.; KARTAL, B.; DEN CAMP, H.J.M.O. Current perspectives on the application of N-damo and anammox in wastewater treatment. *Current Opinion in Biotechnology*, v.50, p.222-227, 2018.

VEILLETTE, M.; GIRARD, M.; VIENS, P.; BRZEZINSKI, R.; HEITZ, M. Function and limits of biofilters for the removal of methane in exhaust gases from the pig industry. *Appl Microbiol Biotechnol*, v.94, n.3, p.601-611, 2012.

VON SPERLING, M. Urban wastewater treatment in Brazil, *Inter-Amecian Development Bank, Technical Note* (August), p. 1–102, 2016.

VON SPERLING, M. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias. Editora UFMG, vol.1, 4ª edição, 2014, 472p.

WANG, X.; ZHANG, Y.; ZHANG, T.; ZHOU, J. Effect of dissolved oxygen on elemental sulfur generation in sulfide and nitrate removal process: characterization, pathway, and microbial community analysis. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.100, n.6, p.2895-2905, 2016.

WANG, D.; WANG, Y.; LIU, Y.; NGO, H.H.; LIAN, Y.; ZHAO, J.; CHEN, F.; YANG, Q.; ZENG, G.; LI, X. Is denitrifying anaerobic methane oxidation-centered technologies a solution for the sustainable operation of wastewater treatment Plants? *Bioresource Technology*, v. 234, p. 456-465, 2017.

WANNER, J. Use of the routine biological analysis to check the performance of sewage treatment plants. In: International Symposium on Biological Approach to Sewage Treatment Process: Current Status and Perspectives, Proceedings, Perugia: Paolo Madoni, p.199–210, 1991 *apud* MORAES, B.S.; ORRÚ, J.G.T.; FORESTI, E. Nitrogen and sulfide removal from effluent of UASB reactor in a sequencing fed-batch biofilm reactor under intermittent aeration. *Journal of Biotechnology*, v.164, p. 378-385, 2013.

WETT, B.; OMARI, A.; PODMIRSEG, S. M.; HAN, M.; AKINTAYO, O.; BRANDÓN, M. G.; MURTHY, S.; BOTT, C.; HELL, M.; TAKÁCS, I.; NYHUIS, G.; SHAUGHNESSY, M. O. Going for mainstream deammonification from bench to full scale for maximized resource efficiency. *Water Science and Technology*, v.68, n.2, p.283-289, 2013.

WOLF, M.; MULLER, T.; DANDEKAR, T.; POLLACK, J.D. Phylogeny of Firmicutes with special reference to Mycoplasma (Mollicutes) as influenced from phosphoglycerate kinase amino acid sequence data. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 54, p. 871–875, 2004.

XU, X.-J.; CHEN, C.; GUAN, X.; YUAN, Y.; WANG, A.J.; LEE, D.J.; ZHANGA, Z.F.; ZHANG, J.; ZHONG, Y.J.; REN, N.Q. Performance and microbial community analysis of a microaerophilic sulfate and nitrate co-reduction system. *Chemical Engineering Journal*, v.330, p. 63-70, 2017.

XU, X. J.; CHEN, C.; WANG, A. J.; FANG, N.; YUAN, Y.; REN, N. Q.; LEE, D. J. Enhanced elementary sulfur recovery in integrated sulfate-reducing, sulfur-producing reactor under micro-aerobic condition. *Bioresource Technology*, v.116, p.517-521, 2012.

- YANG, A.; ZHAO, W.; PENG, M.; ZHANG, G.; ZHI, R.; MENG, F. A special light-aerobic condition for photosynthetic bacteria-membrane bioreactor technology. *Bioresource Technology*, v.268, p. 820-823, 2018.
- YANG, J.; TRELA, J.; ZUBROWSKA-SUDOL, M.; PLAZA, E. Intermittent aeration in one-stage partial nitrification/anammox process. *Ecological Engineering*, v. 75, p. 413-420, 2015.
- YE, L.; LI, D.; ZHANG, J.; ZENG, H. Fast start-up of anammox process with mixed activated sludge and settling option. *Environmental Technology*, v.39, p.3088-3095, 2018.
- YOU, J.; DAS, A.; DOLAN, E.M.; HU, Z. Ammonia-oxidizing archaea involved in nitrogen removal. *Water Research*, v.43, p.1801-1809, 2009.
- YU, H.; CHEN, C.; MA, J.; XU, X.; FAN, R.; WANG, A. ;Microbial community functional structure in response to micro-aerobic conditions in sulfate-reducing sulfur-producing bioreactor. *Journal of Environmental Sciences*, v. 26, p.1099-1107, 2014.
- ZHOU, Q.; ZHANG, G.; ZHENG, X.; LIU, G. Biological treatment of high NH_4^+ - N wastewater using an ammonia-tolerant photosynthetic bacteria strain (ISASWR2014). *Chinese Journal of Chemical Engineering*, v.23, p.1712-1715, 2015.
- ZHU, J.; WANG, Q.; YUAN, M.; TAN, G.Y.A.; SUN, F.; WANG, C.; WU, W.; LEE, P.H. Microbiology and potential applications of aerobic methane oxidation coupled to denitrification (AME-D) process: A review. *WaterResearch*, v.90, p.203-215, 2016.

APÊNDICE

Tabela A.1 - Abundância relativa de todos os filos com abundância relativa superior a 1,0% encontrados nos reatores (controle, R-c e microaerado, R-ar), nas amostras da biomassa aderida nos anéis de polipropileno e lodo, Fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1

	Fase 1 (TDH 6h)				Fase 2 (TDH 3h)			
	Anéis		Lodo		Anéis		Lodo	
	R-c	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar
<i>Acidobacteria</i>	0,24%	0,25%	0,06%	0,03%	0,29%	2,90%	1,44%	0,72%
<i>Actinobacteria</i>	0,15%	0,66%	3,67%	4,87%	0,17%	1,37%	3,18%	0,27%
<i>Archaeplastida</i>	0,38%	0,38%	3,64%	0,25%	0,07%	0,23%	0,43%	1,11%
<i>Bacteroidetes</i>	2,83%	1,62%	0,43%	0,21%	3,79%	6,96%	2,87%	17,04%
<i>Caldiserica</i>	0,08%	0,18%	0,43%	0,64%	0,10%	3,87%	5,70%	0,13%
<i>Chloroflexi</i>	2,74%	2,05%	1,53%	1,13%	62,67%	1,20%	1,39%	25,85%
<i>Cyanobacteria</i>	4,36%	1,89%	0,66%	0,14%	8,77%	0,09%	0,16%	12,78%
<i>Euryarchaeota</i>	0,62%	1,19%	24,04%	46,41%	0,74%	6,43%	20,75%	0,34%
<i>Firmicutes</i>	0,94%	3,00%	11,57%	19,96%	0,52%	4,66%	16,80%	0,68%
<i>Proteobacteria</i>	86,06%	87,22%	52,03%	23,79%	21,01%	63,62%	39,49%	39,75%
<i>Spirochaetes</i>	0,19%	0,16%	0,02%	0,02%	0,18%	1,64%	2,14%	0,17%
<i>Synergistetes</i>	0,25%	0,23%	0,68%	0,83%	0,50%	0,85%	2,74%	0,17%

Tabela A.2 - Abundância relativa de todos os filos com abundância relativa superior a 0,5% encontrados nos reatores (controle, R-c e microaerado, R-ar), nas amostras da biomassa aderida nos anéis de polipropileno e lodo, Fases 1 (TDH 6h) e 2 (TDH 3h) da Etapa 1

	Fase 1 (TDH 6h)				Fase 2 (TDH 3h)			
	Anéis		Lodo		Anéis		Lodo	
	R-c	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar
<i>Acidobacteria</i>	0,24%	0,25%	0,06%	0,03%	0,29%	2,90%	1,44%	0,72%
<i>Actinobacteria</i>	0,15%	0,66%	3,67%	4,87%	0,17%	1,37%	3,18%	0,27%
<i>Archaeplastida</i>	0,38%	0,38%	3,64%	0,25%	0,07%	0,23%	0,43%	1,11%
<i>Bacteroidetes</i>	2,83%	1,62%	0,43%	0,21%	3,79%	6,96%	2,87%	17,04%
<i>Caldiserica</i>	0,08%	0,18%	0,43%	0,64%	0,10%	3,87%	5,70%	0,13%
<i>Chloroflexi</i>	2,74%	2,05%	1,53%	1,13%	62,67%	1,20%	1,39%	25,85%
<i>Cyanobacteria</i>	4,36%	1,89%	0,66%	0,14%	8,77%	0,09%	0,16%	12,78%
<i>Euryarchaeota</i>	0,62%	1,19%	24,04%	46,41%	0,74%	6,43%	20,75%	0,34%
<i>Firmicutes</i>	0,94%	3,00%	11,57%	19,96%	0,52%	4,66%	16,80%	0,68%
<i>Kiritimatiellaeota</i>	0,01%	0,01%	0,27%	0,66%	0,00%	0,08%	0,26%	0,00%
<i>Latescibacteria</i>	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,90%	0,24%	0,01%
<i>Opisthokonta</i>	0,06%	0,22%	0,10%	0,10%	0,04%	0,61%	0,37%	0,01%
<i>Planctomycetes</i>	0,17%	0,39%	0,29%	0,45%	0,28%	0,87%	0,83%	0,08%
<i>Proteobacteria</i>	86,06%	87,22%	52,03%	23,79%	21,01%	63,62%	39,49%	39,75%
<i>Spirochaetes</i>	0,19%	0,16%	0,02%	0,02%	0,18%	1,64%	2,14%	0,17%
<i>Synergistetes</i>	0,25%	0,23%	0,68%	0,83%	0,50%	0,85%	2,74%	0,17%
<i>Não classificado</i>	0,03%	0,14%	0,18%	0,14%	0,04%	2,42%	0,25%	0,01%

Tabela A.3 – Abundância relativa (%) dos gêneros de bactérias fermentativas e acetogênicas nas amostras dos reatores R-controle (R-c) e R-ar, nos TDHs de 6h e 3h, com abundância <0,5%

Gêneros	Fase 1 (TDH 6h)				Fase 2 (TDH 3h)			
	Anéis		Lodo		Anéis		Lodo	
	R-c	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar	R-c	R-ar
<i>Eubacterium</i>	0,00	0,22	0,68	0,95	5,13	0,00	0,40	0,00
<i>Ruminococcus 1</i>	0,00	0,00	0,04	0,06	0,00	0,01	0,06	0,00
<i>Ruminococcus 2</i>	0,00	0,00	0,04	0,08	0,00	0,00	0,03	0,00
<i>Streptococcus</i>	0,00	0,00	0,02	0,06	0,01	0,01	0,01	0,00
<i>Syntrophobacter</i>	0,00	0,08	0,21	0,29	0,00	0,12	0,27	0,00