

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

AVALIAÇÃO DE REATORES FOTOTRÓFICOS E
AERÓBIO NA OXIDAÇÃO BIOLÓGICA DE
SULFETO

Lariza dos Santos Azevedo

Belo Horizonte

2017

**AVALIAÇÃO DE REATORES FOTOTRÓFICOS E
AERÓBIO NA OXIDAÇÃO BIOLÓGICA DE
SULFETO**

Lariza dos Santos Azevedo

Lariza dos Santos Azevedo

AVALIAÇÃO DE REATORES FOTOTRÓFICOS E AERÓBIO NA OXIDAÇÃO BIOLÓGICA DE SULFETO

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

Área de concentração: Saneamento

Linha de pesquisa: Tratamento de águas residuárias

Orientador: Carlos Augusto de Lemos Chernicharo

Coorientadora: Juliana Calábria de Araújo

Belo Horizonte

Escola de Engenharia da UFMG

2017

A994a Azevedo, Lariza dos Santos.
Avaliação de reatores fototróficos e aeróbio na oxidação biológica de sulfeto [manuscrito] / Lariza dos Santos Azevedo. – 2017.
xi, 111 f., enc.: il.

Orientador: Carlos Augusto de Lemos Chernicharo.

Dissertação (mestrado) Universidade Federal de Minas Gerais,
Escola de Engenharia.

Bibliografia: f. 104-111.

1. Engenharia sanitária - Teses. 2. Saneamento - Teses. 3. Sulfetos - Teses. 4. Biorreatores - Teses. 5. Enxofre - Teses. I. Chernicharo, Carlos Augusto Lemos. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Engenharia. III. Título.

CDU: 628(043)

“Tudo tem o seu tempo determinado e há tempo para todo o propósito debaixo do céu.”

Eclesiastes 3:1

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tornar possível cada conquista na minha vida e por ter chegado até aqui. Por atender minhas orações e por cada anjo que Ele colocou no meu caminho, tornando mais fácil minha caminhada.

Aos meus pais, Agnaldo e Laize, que sempre fizeram o possível e o impossível por mim. À minha mãe por todo o cuidado e ao meu pai por ser o meu porto seguro. Agradeço por me motivarem à constante busca do conhecimento.

Às minhas irmãs, Rai e Tatai, pelo apoio nos momentos difíceis, por cada momento de cumplicidade e amizade. Em especial à Rai, bióloga de plantão sempre tirando dúvidas da engenheira que resolveu se aventurar no mundo microbiológico.

À minha família que de perto ou de longe sempre torceu por mim. Em especial à vovó Ismarina por suas orações e ao Dindo Tio Ito que mesmo estando longe sempre se faz tão presente.

Ao Lucas, por sempre acreditar em mim e me lembrar que sou capaz. Obrigada por despertar em mim os melhores sentimentos. À sua família, em especial aos seus pais, Antônio e Sônia, pelo carinho.

Ao Professor Carlos agradeço os ensinamentos, experiências compartilhadas e confiança em mim depositada. À Professora Juliana, por ter aceitado o convite de coorientar o presente trabalho e por todas as suas sugestões e orientações sempre muito pertinentes. Sou grata pela oportunidade de ter sido orientada por vocês.

À grande família Desa, que durante o mestrado me proporcionou tantos momentos de felicidade! Juntos passamos por cada momento difícil e superamos os obstáculos que surgiram durante o percurso. Agradeço especialmente às queridas *roomies* Nicole e Naty por todos os momentos em que estivemos juntas e longas conversas de corredor. Seria injusta ao tentar citar todos que comigo vivenciaram momentos de alegria ao longo desses dois anos, mas entre eles não poderia deixar de citar os queridos Diogo, Lauritta, Carlitos, Daniel Diaz, Rodrigo, Isabela, Débora e Jessyca.

Aos amigos Jorgito, Iacy, Carlitos e Rodrigo López agradeço a companhia nas idas ao CePTS. Vocês tornaram cada momento prazeroso, ainda que o sono fosse grande e diante das

adversidades que encontramos ao longo das nossas pesquisas. Agradeço especialmente à Iacy, parceira do enxofre e grande amiga que o mestrado me presenteou. Obrigada por toda a ajuda e pelo apoio no entendimento da oxidação biológica de sulfeto.

Às meninas da micro, queridas Cíntia, Bruna, Alyne, Elayne, Luyara e Cássia. Em especial à Cíntia, por toda a ajuda e receptividade na micro, por aceitar o meu jeito falatório e ansioso e transmitir sua calma quando preciso.

Às bolsistas de iniciação científica, Isla Rosa e Laís Alves, por serem proativas e pela ajuda ao longo das análises. A ajuda de vocês foi fundamental!

Ao Professor Luewton e ao *Centre of Expertise Water Technology/Water application Centrum* pela oportunidade do estágio. À todos que com muito amor me receberam na Holanda, em especial à Fafá, Waling, Mila, Ana Alice, Arjen, Ana Paula e os *babies* Bella e Davi. Obrigada pelos meses de novas experiências e de muito aprendizado!

Ao Sr. Raimundo por todo auxílio e boas ideias. Agradeço toda ajuda e disponibilidade de tantas ferramentas que se fizeram necessárias. Ao Jésus, que com muito bom humor nos conduzia ao CePTS.

Aos funcionários do DESA: Júlio, Cida, Fernanda, Lucilaine e Mirna por toda ajuda prestada. Em especial à Suzane, por coordenar as idas ao CePTS e aturar a cobrança diária relativa à chegada de reagentes e material. Obrigada, Suzie!

À todos os professores com quem tive a oportunidade de ter aulas: Marcelo, Marcos, Silvia, Valter, César, Sonaly e Léo Heller. À querida professora Ana Silvia, pelo incentivo em fazer o mestrado e por despertar em mim o interesse na área de saneamento. Ao professor Paulo Brandão e ao de Laboratório de caracterização de minérios e materiais do Departamento de Engenharia de Minas da UFMG pelo auxílio na análise química do enxofre elementar.

À banca examinadora, professores Cesar Rossas Mota Filho e Marcelo Zaiat, pelo aceite do convite e leitura crítica do trabalho.

À FAPEMIG pela bolsa concedida e à FINEP pelo financiamento do projeto.

Ao Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental pela oportunidade de realizar o mestrado.

RESUMO

A emissão de odores em reatores UASB advém principalmente do sulfeto de hidrogênio, formado a partir da redução do sulfato presente no esgoto doméstico. A presente pesquisa avaliou o desempenho de dois reatores fototróficos como alternativa de pós-tratamento de efluente de reator UASB aplicado ao tratamento de esgoto doméstico, com ênfase na oxidação parcial de sulfeto de hidrogênio a enxofre elementar. Os reatores fototróficos foram operados sob condição de ausência e presença de meio suporte (anéis plásticos) e diferentes tempos de detenção hidráulica (TDH), 6h, 4h e 2h. Buscou-se ainda avaliar o desempenho de um reator aeróbio e comparar a aplicabilidade dos reatores fototróficos e aeróbio (THIOPAQ®) sob diferentes condições operacionais. Os resultados obtidos para ambos os reatores fototróficos demonstraram maiores eficiências de remoção de sulfeto para o TDH de 6h, com eficiências medianas de 92% e 75% para o reator preenchido com meio suporte e reator controle, respectivamente. A formação de enxofre elementar ocorreu em ambos biorreatores nas diferentes condições operacionais testadas, com destaque para as concentrações de enxofre elementar observadas no efluente do reator preenchido com anéis plásticos, superiores às obtidas para o reator controle nos três TDH testados. A melhor qualidade do efluente final foi observada para o reator preenchido com meio suporte, com concentração mediana de DQO total e SST inferiores a $105 \text{ mgDQO}_{\text{total}}\cdot\text{L}^{-1}$ e $30 \text{ mgSST}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente. As espécies nitrogenadas presentes no efluente dos biorreatores não se mostraram distintas das comumente presentes em efluente de reator UASB. Bactérias sulfurosas púrpuras foram identificadas microscopicamente e, a partir da análise de PCR-DGGE, sequências próximas às dos gêneros *Chlorobaculum sp.* e *Thiocapsa sp.* foram identificadas. Ainda que diferenças expressivas não tenham sido observadas no que diz respeito à diversidade microbiana dos biorreatores ao longo das fases testadas, em ambos reatores a diversidade microbiana foi ligeiramente superior sob condições de maior TDH testado (6h). No que diz respeito ao reator THIOPAQ®, operado sob condições de alta carga, observou-se a influência de diversos parâmetros, como TDH e concentração de nutrientes, na estabilidade e desempenho do sistema. Os resultados da pesquisa demonstraram a potencialidade de aplicação de biorreatores fototróficos para o pós-tratamento de efluentes de reatores UASB tratando esgoto doméstico, com vistas à oxidação parcial de sulfeto a enxofre elementar e à melhoria geral de qualidade do efluente. Adicionalmente, é possível afirmar que a introdução de modificações nas condições naturalmente presentes nos reatores fototróficos possivelmente resultaria no incremento dos níveis de oxidação de sulfeto a enxofre elementar.

ABSTRACT

Odour emissions in UASB reactors are mainly related to hydrogen sulphide, produced during the reduction of sulphate present in domestic wastewater. This study evaluated the performance of two phototrophic reactors as alternative to post-treat the effluent of UASB reactor applied to the treatment of domestic wastewater, focusing on sulphide oxidation to elemental sulphur. The phototrophic reactors were operated with or without packing material (polypropylene rings) and different hydraulic retention times (HRT), 6h, 4h and 2h. The performance of an aerobic reactor (THIOPAQ®) and the feasibility of phototrophic and aerobic reactors under different operational conditions were also evaluated. The results obtained for both reactors showed high median sulphide removal efficiencies at the HRT of 6 h, 92% and 75%, for the reactor without and with packing material, respectively. Biological oxidation of sulphide was observed in both reactors for all tested operational conditions, however higher elemental sulphur concentrations were observed in reactor with packing material than in control reactor for all HRT tested. The highest effluent quality was obtained for the packed reactor, with COD and TSS values below 105 mgCOD_{total}.L⁻¹ and 30 mgTSS.L⁻¹, respectively. Differences among nitrogen compounds determined in the effluent of bioreactors and the UASB reactor effluent were not observed. Purple bacteria were microscopically observed and sulphur bacteria similar to *Chlorobaculum* sp. and *Thiocapsa* sp. were identified by PCR-DGGE analysis. Expressive differences in microbial diversity between the bioreactors were not observed, yet slightly higher diversities were observed at the HRT of 6 h. In relation to the high sulphide loading reactor THIOPAQ®, it was observed that operational conditions (i.e. HRT and nutrients concentration) have influence on the stability and performance of the system. The results of this research showed the potentiality of using phototrophic bioreactors to post-treat the effluent of UASB reactors treating domestic wastewater, aiming at the partial oxidation of sulphide to elemental sulphur and the overall improvement of the effluent quality. Additionally, it is possible to state that the introduction of modifications on the natural conditions naturally present in the reactors would probably result in the improvement of the levels of sulphide oxidation to elemental sulphur.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	VIII
LISTA DE TABELAS.....	X
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	XI
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1 REATORES ANAERÓBIOS	4
2.2 CICLO DO ENXOFRE.....	5
2.2.1 Íon Sulfato: redução e características associadas	8
2.2.2 Íon sulfeto: formação e características relacionadas.....	9
2.3 PROCESSOS DE CONTROLE DE SULFETO DE HIDROGÊNIO	11
2.4 OXIDAÇÃO BIOLÓGICA DE SULFETO DE HIDROGÊNIO	14
2.4.1 Oxidação biológica de sulfeto a enxofre elementar: via aeróbia	15
2.4.2 Oxidação biológica de sulfeto a enxofre elementar: via anaeróbia	17
2.5 ENXOFRE ELEMENTAR BIOLÓGICO: CARACTERÍSTICAS E PERSPECTIVAS DE APROVEITAMENTO	20
2.6 INTERAÇÃO DOS CICLOS DE ENXOFRE E NITROGÊNIO	21
2.7 EXPERIÊNCIAS RELACIONADAS À OXIDAÇÃO BIOLÓGICA DE SULFETO EM DIFERENTES TIPOS DE REATORES	24
3 OBJETIVOS.....	29
3.1 OBJETIVO GERAL	29
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	29
4 MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1 REATORES FOTOTRÓFICOS SOB CONDIÇÕES DE BAIXA CARGA DE SULFETO APLICADA.....	30
4.1.1 Área de estudo	30
4.1.2 Aparato experimental	30
4.1.3 Partida do sistema e fases operacionais.....	32
4.1.4 Amostragem e monitoramento.....	34
4.1.5 Parâmetros físico-químicos monitorados.....	34
4.1.6 Análises microbiológicas.....	35
4.1.7 Análises estatísticas.....	35
4.2 REATOR BIOLÓGICO DE OXIDAÇÃO DE SULFETO SOB CONDIÇÕES DE ALTA CARGA DE SULFETO APLICADA – REATOR THIOPAQ®.....	36
5 DESEMPENHO DE REATORES FOTOTRÓFICOS APLICADOS AO PÓS-TRATAMENTO DE EFLUENTE DE REATORES UASB TRATANDO ESGOTO DOMÉSTICO COM ÊNFASE NA OXIDAÇÃO BIOLÓGICA DE SULFETO	38
5.1 INTRODUÇÃO	38
5.2 MATERIAL E MÉTODOS	39
5.2.1 Aparato experimental e monitoramento	40
5.2.2 Distribuição das frações de enxofre	42
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
5.3.1 Relação entre os parâmetros físicos e químicos monitorados no interior dos reatores.....	44
5.3.2 Monitoramento das espécies sulfurosas presentes no efluente dos reatores	46
5.3.3 Distribuição de massa de enxofre elementar presente nos biorreatores	53
5.3.4 Remoção de matéria orgânica residual.....	61
5.3.5 Remoção de sólidos suspensos	64
5.3.6 Monitoramento das concentrações de compostos nitrogenados	67
5.3.7 Síntese dos resultados obtidos.....	69
5.4 CONCLUSÕES	71
6 CARACTERIZAÇÃO DA COMUNIDADE MICROBIANA DESENVOLVIDA EM BIORREATORES FOTOTRÓFICOS OPERADOS SOB DIFERENTES TDH E CONDIÇÕES DE MEIO SUPORTE.....	73
6.1 INTRODUÇÃO	73

6.2	MATERIAL E MÉTODOS	74
6.2.1	<i>Aparato experimental e monitoramento</i>	74
6.2.2	<i>Caracterização morfológica dos microrganismos presentes nos reatores</i>	75
6.2.3	<i>Extração de DNA</i>	75
6.2.4	<i>Reação em cadeia da DNA polimerase (PCR) e Eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE)</i>	75
6.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	77
6.3.1	<i>Análise por microscopia óptica dos microrganismos presentes nos biorreatores</i>	77
6.3.2	<i>Análise do perfil de bandas de DNA da comunidade bacteriana de cada reator a partir do DGGE</i> 79	
6.3.3	<i>Comparação dos perfis de DGGE obtidos para as amostras de biomassa e lodo dos reatores fototróficos</i>	85
6.4	CONCLUSÕES	87
7	INFLUÊNCIA DE CONDIÇÕES OPERACIONAIS NO DESEMPENHO DE UM REATOR DE OXIDAÇÃO DE SULFETO SOB CONDIÇÕES DE ALTA CARGA	88
7.1	INTRODUÇÃO	88
7.2	MATERIAL E MÉTODOS	89
7.2.1	<i>Aparato experimental</i>	89
7.2.2	<i>Composição do meio e inóculo</i>	89
7.2.3	<i>Operação do reator THIOPAQ®</i>	89
7.2.4	<i>Amostragem e monitoramento</i>	90
7.2.5	<i>Balanço das espécies de enxofre</i>	91
7.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	92
7.4	CONCLUSÕES	97
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	98
8.1	PRELIMINARES	98
8.2	EM RELAÇÃO AOS RESULTADOS OBTIDOS PARA OS REATORES FOTOTRÓFICOS	98
8.3	EM RELAÇÃO ÀS CONDIÇÕES OPERACIONAIS DO REATOR THIOPAQ®	99
8.4	ASPECTOS RELACIONADOS À CONTRIBUIÇÃO DA PRESENTE PESQUISA	99
8.4.1	<i>Influência de diferentes condições operacionais em biorreatores de oxidação de sulfeto</i>	99
8.4.2	<i>Aplicabilidade de reatores de oxidação de sulfeto de baixa e alta carga</i>	101
9	RECOMENDAÇÕES	103
	REFERÊNCIAS	104

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Conversões presentes no ciclo biológico do enxofre sob condições oxigênicas e anoxigênicas.	7
Figura 2.2 - Distribuição das espécies de sulfeto em solução de acordo com pH, para 25°C.	11
Figura 2.3 - Métodos de controle a partir de inibição da geração ou da eliminação do H ₂ S gerado.	12
Figura 2.4 - Rotas metabólicas microbiológicas de conservação de energia.	14
Figura 2.5 - (A) Bactérias do gênero <i>Thiothrix</i> isoladas com destaque para glóbulos internos de enxofre elementar (B) Bactérias oxidadoras de sulfeto do gênero <i>Beggiatoa</i> isoladas a partir de efluente de uma estação de tratamento de esgoto (C) Células de espécies do gênero <i>Thioploca</i> contendo grânulos amarelos relativos ao enxofre elementar armazenado de modo intracelular.	16
Figura 2.6 - Compostos e microrganismos envolvidos nos processos de fotossíntese anoxigênica e oxigênica.	18
Figura 2.7 - (A) Imagem microscópica de sulfobactérias púrpuras do gênero <i>Thiospirillum</i> (B) Microscopia de células de bactérias púrpuras do gênero <i>Isochromatium</i> (C) Bactérias verdes oxidadoras de sulfeto do gênero <i>Chlorobium</i> . As setas destacam a presença de glóbulos de enxofre elementar.	19
Figura 2.8 - Proliferação de sulfobactérias púrpuras da espécie <i>Lamprocystis roseopersicina</i>	19
Figura 2.9 - Interação dos ciclos do nitrogênio e do enxofre.	22
Figura 4.1 - Fluxograma geral do aparato experimental.	30
Figura 4.2 - Reator UASB em escala piloto.	31
Figura 4.3 - Configuração esquemática e vista dos biorreatores utilizados na pesquisa.	32
Figura 4.4 - Vista lateral e superior do meio suporte presente no R1.	32
Figura 4.5 - Representação esquemática do sistema THIOPAQ® avaliado em escala laboratorial.	37
Figura 5.1 - Monitoramento realizado no interior dos reatores fototróficos a partir de sonda multiparamétrica.	40
Figura 5.2 - Ilustração das parcelas consideradas no cálculo da distribuição dos compostos sulfurosos nos biorreatores.	43
Figura 5.3 - Diagrama de <i>Pourbaix</i> para espécies estáveis de enxofre em solução aquosa (25°C, pressão total 1 bar) com destaque em vermelho para a forma de enxofre favorecida quimicamente a partir dos valores monitorados de pH e ORP nos biorreatores.	46
Figura 5.4 - Concentrações de sulfeto dissolvido ao longo das fases monitoradas.	47
Figura 5.5 - Remoção de sulfeto obtida para os biorreatores nas três fases avaliadas.	48
Figura 5.6 - Concentrações de sulfato efluente dos reatores UASB e fototróficos durante as fases avaliadas.	50
Figura 5.7 - Fotos do precipitado branco presente no efluente do R2-suporte durante a primeira fase do estudo (A) Ensaio de sedimentabilidade do efluente, após 30 minutos. (B) Imagem do precipitado presente no efluente do reator (C) Filtro utilizado para análise de sólidos suspensos após filtrar 250 ml do efluente do reator.	51
Figura 5.8 - Parcela dos elementos químicos detectados por espectro de fluorescência de raios-X do precipitado presente no efluente do R2-suporte, com destaque para o enxofre.	52
Figura 5.9 - Concentrações de enxofre elementar efluente dos reatores UASB e fototróficos ao longo das três fases monitoradas.	53
Figura 5.10 - Massa de enxofre elementar formada mensalmente na biomassa e lodo dos biorreatores sob diferentes condições operacionais no período de 30 dias.	54
Figura 5.11 - Distribuição do enxofre elementar formado no lodo e biomassa dos	56
Figura 5.12 - Massa de enxofre acumulada nas formas de sulfeto, sulfato e enxofre elementar em um período de 30 dias.	58
Figura 5.13 - Percentuais relativos à distribuição da massa das frações de enxofre acumuladas nos biorreatores no período de 30 dias de monitoramento.	59
Figura 5.14 - Concentração de DQO total efluente dos reatores UASB e fototróficos ao longo do período monitorado.	62
Figura 5.15 - Eficiências de remoção de DQO total nas três fases estudadas.	62
Figura 5.16 - Concentração de sólidos suspensos totais efluente dos reatores UASB e fototróficos nas três fases avaliadas.	65
Figura 5.17 - Remoção de sólidos suspensos totais presentes no efluente do reator UASB e biorreatores ao longo das fases avaliadas.	66

Figura 5.18 - Concentração de nitrogênio amoniacal no efluente dos reatores UASB e fototróficos nas três fases monitoradas.	68
Figura 6.1 - Biomassa presente na parte superior dos reatores R1-controle para o TDH de 6 h (A), 4 h (B) e 2 h (C) e R2-suporte para o TDH de 6 h (D), 4 h (E) e 2 h (F).....	78
Figura 6.2 - Imagens microscópicas das bactérias púrpuras presentes na biomassa do R2-suporte na Fase II, com destaque para o enxofre produzido e armazenado intracelularmente.....	79
Figura 6.3 - Perfil do gel de DGGE contendo fragmentos de DNAr 16S amplificados com iniciadores universais para bactérias em geral (1055F/1392R-GC).	79
Figura 6.4 - Dendograma gerado a partir dos perfis das bandas do gel de DGGE. Os valores presentes na ramificação do dendograma são referentes à similaridade entre as amostras.	85
Figura 6.5 - Índice de <i>Shannon</i> relativo às amostras de biomassa e lodo coletadas ao fim de cada fase.....	86
Figura 7.1 - Valores obtidos para os parâmetros pH e temperatura no reator THIOPAQ®.	93
Figura 7.2 - Evolução da carga volumétrica de sulfeto aplicada ao reator THIOPAQ® ao longo do período monitorado.	93
Figura 7.3 - Variações observadas nas colorações do efluente do reator THIOPAQ® sob diferentes condições operacionais: reator estável (A) e reator operando sob condições de sobrecarga de sulfeto devido à baixa concentração de biomassa (B).	95
Figura 7.4 - Tempo de detenção hidráulica e vazão do reator THIOPAQ® ao longo de 39 dias de operação.....	95
Figura 7.5 - Distribuição das massas de enxofre nas formas de sulfato, tiosulfato e enxofre elementar ao longo do período monitorado para o reator THIOPAQ®.	96
Figura 7.6 - Imagem microscópica das partículas de enxofre observadas no dia operacional 28 para o efluente do reator THIOPAQ®.	97

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 - Faixas de valores obtidos em efluente de reator UASB tratando esgotos domésticos.....	5
Tabela 2.2 - Efeitos e sintomas relacionados à exposição de sulfeto de hidrogênio para diferentes concentrações.	9
Tabela 2.3 - Efeitos relacionados à formação de sulfeto em reatores anaeróbios.	11
Tabela 2.4 - Características de reatores utilizados em estudos prévios de oxidação de sulfeto.....	28
Tabela 4.1 - Caracterização do esgoto bruto afluente ao reator UASB.....	31
Tabela 4.2 - Principais características do reator UASB.....	31
Tabela 4.3 - Fases operacionais e características dos biorreatores fototróficos.....	33
Tabela 4.4 - Parâmetros físico-químicos monitorados: metodologias de análise, frequências e pontos de amostragem.....	35
Tabela 4.5 - Síntese das análises estatísticas realizadas.....	36
Tabela 5.1 - Parâmetros físico-químicos monitorados: metodologias de análise, frequências e pontos de amostragem.....	41
Tabela 5.2 - Método utilizado para cálculo da massa de compostos sulfurosos produzida ao longo de cada fase monitorada.	43
Tabela 5.3 - Resultados dos parâmetros monitorados no interior dos biorreatores fototróficos.	44
Tabela 5.4 - Cargas de sulfeto aplicadas nos biorreatores, eficiências medianas de remoção de sulfeto e relação entre enxofre elementar efluente e sulfeto afluente ao longo do período monitorado.	55
Tabela 5.5 - Massa de enxofre elementar acumulado durante um mês nos biorreatores.	60
Tabela 5.6 - Carga de sulfeto aplicada, eficiência mediana de remoção de sulfeto e concentrações efluentes das frações de enxofre monitoradas no reator UASB e biorreatores.	70
Tabela 5.7 - Concentrações medianas efluentes de DQO, SST e de nitrogênio amoniacal para os reatores monitorados ao longo das três fases monitoradas.....	71
Tabela 6.1 - Características do par de iniciadores usado na PCR-DGGE.	76
Tabela 6.2 - Especificações dos reagentes utilizados na reação da PCR.	76
Tabela 6.3 - Etapas e características do programa utilizado no termociclador para as reações de amplificação do gene RNAr 16S com os iniciadores 1055F-1392R.	76
Tabela 6.4 - Identificação das bandas de DGGE a partir do <i>RDP Classifier</i> e <i>Blastn</i>	80
Tabela 6.5 - Diversidade microbiana nos reatores R1-controle e R2-suporte para as amostras de biomassa e lodo nas três fases monitoradas.	84
Tabela 7.1 - Condições operacionais recomendadas para o reator THIOPAQ®.....	90
Tabela 7.2 - Parâmetros monitorados, frequência de análises, diluição, relevância da análise e métodos utilizados.	91
Tabela 7.3 - Parâmetros e equações utilizados na determinação das espécies de enxofre presentes na linha de tratamento.....	92
Tabela 8.1 - Condições operacionais dos reatores THIOPAQ® e fototrófico.	99

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

- BOS - Bactérias oxidadoras de sulfeto
- BRS - Bactérias redutoras de sulfato
- CePTS - Centro de Pesquisa e Treinamento em Saneamento
- CO₂ - Dióxido de Carbono
- COPAM - Companhia de Saneamento de Minas Gerais
- CONAMA - Conselho Nacional de Meio Ambiente
- DEAMOX - *Denitrifying Ammonium Oxidation*.
- DNA - Ácido desoxirribonucléico
- DGGE - *Denaturing Gradient Gel Electrophoresis* - Eletroforese em gel com gradiente desnaturante
- DQO - Demanda Química de Oxigênio
- ETE - Estação de tratamento de esgotos
- FeS₂ - Pirita
- FRX - Fluorescência de raios X
- HS⁻ - sulfeto dissociado
- H₂S - sulfeto de hidrogênio
- H₂O₂ - peróxido de hidrogênio
- HPLC - *High Performance Liquid Chromatography* - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.
- NaOH - hidróxido de sódio
- NH₄⁺ - íon amônio
- NO₂⁻ - nitrito
- NO₃⁻ - nitrato
- OD - Oxigênio Dissolvido
- ORP- *Oxidation redox potential* - potencial de oxido-redução
- pH - potencial hidrogeniônico
- PCR - *Polymerase Chain Reaction* - reação em cadeia da polimerase
- RFLR - *Reverse fluidized loop reactor* - Reator de leito fluidizado reverso
- rpm - rotações por minuto
- SH - Radical sulfidrílica
- S⁰ - Enxofre Elementar
- S²⁻ - Sulfeto
- S₂O₃²⁻ - Tiosulfato

SO₄²⁻ - Sulfato

SST - Sólidos suspensos totais

SSV - Sólidos suspensos voláteis

ST - Sólidos totais

TDH - Tempo de detenção hidráulica

UASB - *Upflow Anaerobic Sludge Blanket* (Reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo)

UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais

1 INTRODUÇÃO

Compostos sulfurosos de origem antropogênica geram impactos negativos ao ambiente, como por exemplo: corrosão de estruturas de aço e concreto, chuva ácida e geração de odor, advindo de sistemas de tratamento de águas residuárias, redes coletoras de esgoto e aterros sanitários. Dentre as frações de enxofre, os aspectos negativos são particularmente marcantes para o sulfeto de hidrogênio (H_2S), composto de enxofre reduzido com características tóxicas e corrosivas. Embora estudos relacionados à remoção biológica de compostos de nitrogênio e fósforo tenham sido realizados, aos compostos de enxofre menor relevância foi atribuída. Devido à necessidade de recuperação de enxofre, este cenário apresentou modificações e diversas tecnologias biológicas foram desenvolvidas a fim de compreender o ciclo de enxofre, no qual bactérias sulfurosas desempenham papel fundamental nas diversas reações envolvidas (POKORNA; ZABRANSKA, 2015).

Em condições anaeróbias, compostos oxidados de enxofre são reduzidos a sulfeto de hidrogênio, passível de estar presente no biogás - forma gasosa - ou no efluente anaeróbio - forma dissolvida. Visando o aproveitamento energético (biogás) e atendimento às legislações ambientais (efluentes anaeróbios) a remoção desta fração sulfurosa indesejada se faz necessária (SOROKIN *et al.*, 2008; KRAYZELOVA *et al.*, 2015; PORKONA; ZABRANSKA, 2015).

A escolha do método de controle de sulfeto de hidrogênio em efluentes deve considerar diversos aspectos tais como eficiência, simplicidade operacional e demanda energética. O controle por meio de oxidação do sulfeto pode ocorrer por via biológica ou química. A via química associada possui como desvantagens elevados custos de operação e manutenção, consumo energético e possibilidade de geração de subprodutos indesejados, como ácido sulfúrico, com exceção à oxidação química via microaeração (MANZ *et al.*, 1992; JENSEN; WEBB, 1995).

A oxidação biológica de sulfeto de hidrogênio é realizada por bactérias sulfurosas em condições aeróbias, anóxicas ou anaeróbias, com diversos possíveis aceptores de elétrons, a saber: oxigênio, nitrato e dióxido de carbono, respectivamente (CAMILOTI, 2012). As bactérias sulfurosas podem oxidar o sulfeto parcialmente a enxofre elementar ou completamente, a sulfato. A formação de enxofre elementar é particularmente interessante devido à possibilidade de aproveitamento em processos industriais, a partir da geração de ácido sulfúrico ou na agricultura, presente em fertilizantes e fungicidas (VANNINI *et al.*, 2008).

Embora eficiente, a via biológica aeróbia de oxidação possui como aspectos negativos demanda energética e riscos associados à operação de reatores contendo alto teor de oxigênio. Tais riscos são expressivos principalmente quando uma corrente gasosa como biogás é tratada, devido à possibilidade de explosão relacionada à mistura dos gases oxigênio e metano. A oxidação biológica anaeróbia apresenta como vantagens: baixo custo, elevada eficiência e simplicidade operacional. As principais limitações relacionadas ao processo são inerentes ao requisito de iluminação e, no caso de adoção de luz solar, necessidade de material transparente que possibilite a passagem de luz (JENSEN; WEBB, 1995; JANSSEN *et al.*, 1999; SYED *et al.*, 2006).

A via biológica anaeróbia é realizada por bactérias sulfurosas verdes e púrpuras que utilizam a luz como fonte de energia para transferência dos elétrons de compostos reduzidos de enxofre para compostos de carbono, promovendo assim sua redução. A via biológica aeróbia, por sua vez, é realizada a partir da atividade de bactérias sulfurosas incolores, que realizam a oxidação de compostos reduzidos de enxofre a partir da utilização de oxigênio como aceptor de elétrons (FRIEDRICH *et al.*, 2005; MADIGAN, 2010). Uma vez que a eficiência do processo é similar à das reações quimiolitotróficas, os requisitos de nutrição e energia tornam a oxidação pela atividade de microrganismos fototróficos uma opção mais atrativa (TANG *et al.*, 2009).

Apesar de diversos estudos relacionados à oxidação biológica terem sido realizados de modo a comprovar a viabilidade do processo (HENSHAW *et al.*, 1998; ANNACHHATRE e SUKTRAKOOLVAIT, 2001; REYES-AVILA *et al.*, 2004; KRISHNAKUMAR *et al.*, 2005; SILVA, 2005; VANNINI *et al.*, 2008; LOHWACHARIN; ANNACHHATRE, 2010 FAJARDO *et al.*, 2012) são ainda escassas as pesquisas que buscaram avaliar a oxidação a enxofre elementar a partir de efluente anaeróbio real, contendo baixas concentrações de sulfeto de hidrogênio dissolvido, entre 7 e 11 mgS⁻².L⁻¹ (SOUZA, 2010), sem realizar a inoculação dos reatores.

Estudo realizado por Garcia *et al.* (2017) avaliou o desempenho de dois biorreatores fototróficos no que diz respeito à remoção de sulfeto presente em efluente anaeróbio real e à diversidade microbiana dos reatores para três tempos de detenção hidráulica (24 h, 12 h e 6 h). Os resultados obtidos demonstraram maior eficiência média de remoção de sulfeto em ambos reatores para o tempo de detenção hidráulica (TDH) de 12 h, da ordem de 90%. Sendo assim, foi evidenciada a possibilidade da adoção de reatores fototróficos de baixo custo para a oxidação de sulfeto de hidrogênio presente em efluentes anaeróbios nas condições testadas.

Nesse contexto, o presente trabalho objetivou complementar estudo realizado por Garcia *et al.* (2017), a partir da identificação das principais conversões de compostos sulfurosos, carbonáceos e nitrogenados presentes no interior dos reatores fototróficos, uma vez que a ênfase do estudo realizado foi relacionada à diversidade microbiana nos biorreatores e às frações de enxofre. Buscou-se avaliar o desempenho dos biorreatores sob condições de três tempos de detenção hidráulica (6 h, 4 h e 2 h) inferiores aos adotados em estudo anterior (24h, 12h e 6h) e avaliar a viabilidade de aplicação de reatores fototróficos como pós-tratamento de efluente anaeróbio sob condições de TDH reduzido. Ademais, foi realizado um estudo de caso adotando um reator aeróbio - THIOPAQ® - de oxidação de sulfeto sob condições de alta carga, visando comparar a aplicabilidade e condições operacionais de dois sistemas com distintas condições operacionais.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 *Reatores anaeróbios*

Sistemas anaeróbios possuem grande aplicabilidade para o tratamento de efluente doméstico em países tropicais, como o Brasil. Podem-se elencar aspectos favoráveis, como: baixo requisito de área, produção de biogás, utilização em pequena e grande escala, baixa produção de sólidos, simplicidade operacional e baixos custos de implantação, operação e manutenção. As vantagens citadas, associadas às elevadas temperaturas predominantes no território brasileiro, colaboram para a adoção de sistemas anaeróbios, com destaque para os reatores anaeróbios de fluxo ascendente e manta de lodo, reatores UASB. No entanto, é fundamental ressaltar as limitações inerentes ao processo, tais como: possível emissão de maus odores, baixa tolerância a cargas tóxicas, elevado tempo necessário para partida do sistema e remoção insuficiente de patógenos, nutrientes e matéria orgânica. Nesse contexto, a fim de enquadrar as características do efluente aos padrões estabelecidos pela legislação ambiental e alcançar maiores eficiências, a etapa de pós-tratamento do efluente de reatores UASB se faz necessária (VAN LIER *et al.*, 2001; CHERNICHARO *et al.*, 2015).

A utilização de reatores UASB para tratamento de esgoto doméstico em larga escala já é uma realidade no Brasil e em outros países tropicais (CHERNICHARO, 2016). Além da simplicidade operacional e menor custo associado à implantação e operação de reatores UASB, tem-se como principal vantagem a conversão da matéria orgânica a metano, presente no biogás gerado e passível de utilização para fins energéticos. No entanto, embora eficiências de remoção de demanda química de oxigênio (DQO) da ordem de 40 a 75% sejam relatadas para reatores UASB (JORDÃO; PESSÔA, 2014), uma das principais limitações inerentes ao processo anaeróbio quando comparado à tecnologias aeróbias de tratamento se relaciona à menor eficiência de remoção e consequente DQO remanescente no efluente. Nesse contexto, uma etapa de pós-tratamento se faz necessária a fim de enquadrar a qualidade do efluente gerado aos padrões legislativos ambientais (JANSSEN *et al.*, 2009; CHERNICHARO, 2015).

A qualidade do efluente advindo de sistemas anaeróbios é influenciada por diversos fatores, tais como: condições locais, características do afluente, projeto do reator e condições operacionais. Valores típicos para parâmetros comumente monitorados em efluente de reator UASB são apresentados na Tabela 2.1. De acordo com estudos prévios, o efluente de reator UASB tratando esgoto doméstico apresenta características como: DQO de 100 a 200

mgDQO.L⁻¹, sólidos suspensos totais (SST) entre 50 e 100 mgSST.L⁻¹, sulfato (SO₄²⁻) entre 10 e 20 mgSO₄²⁻.L⁻¹ e nitrogênio amoniacal (NH₄⁺-N), de 25 a 50 mgN.L⁻¹. As concentrações de sulfeto de hidrogênio em efluente de reatores UASB variam em função da concentração de sulfato presente no esgoto bruto e na prevalência da reação de redução de sulfato em relação à metanogênese, uma vez que a redução de sulfato é favorecida em caso de carbono orgânico disponível (CHERNICHARO, 2016). No entanto, estudos realizados obtiveram concentrações de sulfeto entre 5 e 11 mgS²⁻.L⁻¹ em efluente de reator UASB tratando esgoto doméstico.

Tabela 2.1 - Faixas de valores obtidos em efluente de reator UASB tratando esgotos domésticos.

Parâmetro	Faixa típica (mg.L ⁻¹)	Referência
DQO total	100 – 200	Chernicharo <i>et al.</i> , 2009; Rosa <i>et al.</i> , 2012; Pandey; Dubey, 2014
SST	50 – 100	Florencio <i>et al.</i> , 2001; Chernicharo <i>et al.</i> , 2009; Franco, 2010
NH ₄ ⁺ -N	25 – 50	Torres; Foresti 2001; Almeida, 2012; Ribeiro, 2015
S ²⁻ dissolvido	5 – 11	Souza, 2010; Lima <i>et al.</i> , 2016
SO ₄ ²⁻	10 – 20	Garcia <i>et al.</i> , 2015; Lima <i>et al.</i> , 2016

Dentre os diversos microrganismos presentes em reatores UASB, encontram-se as bactérias redutoras de sulfato, bactérias presentes na competição pelos mesmos doadores de elétrons utilizados por arqueias metanogênicas, acetato e H₂. As bactérias redutoras de sulfato possuem maior afinidade pelo substrato acetato do que as metanogênicas, sendo assim, sob baixas concentrações de acetato, a redução de sulfato é favorecida. A importância dessa competição se eleva com a diminuição da relação DQO/sulfato presente no efluente. Tal competição influencia na quantidade de sulfeto e metano gerados no tratamento anaeróbio (LENS, 1998; BITTON, 2011).

Os maus odores emitidos pelos reatores UASB são oriundos principalmente da redução do sulfato presente no efluente doméstico, convertido a sulfeto de hidrogênio na ausência de oxigênio. O sulfeto produzido via redução de sulfato é transferido para o biogás, podendo ocasionar problemas como corrosão, odor desagradável e inibição de bactérias metanogênicas (POKORNA; ZABRANSKA, 2015; CHERNICHARO, 2016).

2.2 Ciclo do enxofre

O enxofre é relativamente abundante no meio ambiente, sendo o sulfato um dos ânions mais abundantes no mar. Elemento essencial para microrganismos, o enxofre faz parte da

constituição de aminoácidos, proteínas, óleos e enzimas. As fontes de enxofre em águas residuárias são relativas ao enxofre orgânico oriundo de excretas e sulfato, presente em águas naturais (BITTON, 2011). Na forma orgânica, o enxofre constitui diversas coenzimas e aminoácidos na forma de radical sulfidrílica (-SH), com função regulatória, estrutural e catalítica. No entanto, a mesma relevância não é atribuída à sua forma inorgânica, com funções biológicas limitadas. Compostos constituídos de enxofre orgânico são utilizados para assimilação e síntese de compostos orgânicos, ou como aceptores/doadores de elétrons em processos desassimilatórios (POKORNA; ZABRANSKA, 2015).

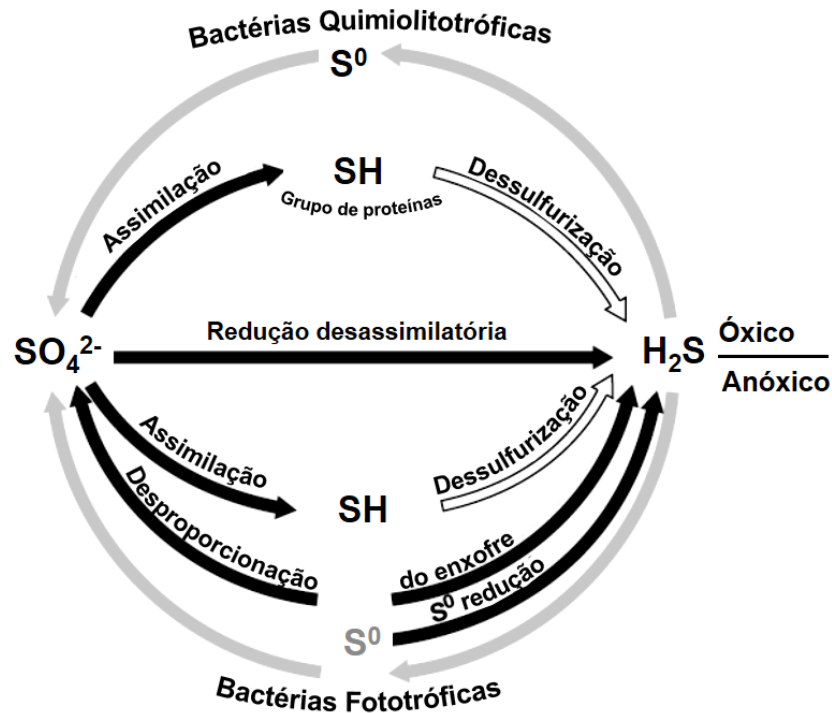
O enxofre é o 14º elemento mais abundante na crosta terrestre, sendo a litosfera a camada com maior teor desse elemento. O ciclo do enxofre possui papel fundamental nos ciclos biogeoquímicos, nos quais microrganismos desempenham funções essenciais (LENS, 2009). Compostos constituídos de enxofre são largamente utilizados em distintas tipologias industriais, na forma de sais ou matéria prima, contribuindo para elevadas concentrações de compostos de enxofre nas suas mais variadas formas (LENS *et al.*, 1998; AMIM, 2008). Em efluentes domésticos, os compostos sulfurosos presentes são de natureza orgânica oriundos de excretas humanas e detergentes (GARCIA, 2014).

O ciclo do enxofre é regido por reações de oxidação e redução, conforme ilustrado na Figura 2.1. Os compostos reduzidos são formados a partir da atividade de bactérias anaeróbias no processo de oxidação de carbono orgânico a dióxido de carbono e redução de sulfato a sulfeto. A variação dos estados de oxidação dos compostos ocasiona o desequilíbrio do ciclo e promove corrosão de materiais, chuva ácida e emissão de maus odores (AMIM, 2008).

Os compostos constituintes do ciclo biológico do enxofre ocorrem em três diferentes estados de oxidação, sendo eles: -2 (sulfeto e enxofre orgânico reduzido), 0 (enxofre elementar) e +6 (sulfato). As reações de oxidação e redução convertem os compostos de um estado a outro, sendo realizadas por agentes químicos ou biológicos (MADIGAN, 2010).

No ciclo biogeoquímico do enxofre, além do estado de oxidação, a forma (orgânica e inorgânica) e estado físico variam ao longo das conversões que o constituem. Em condições oxidantes, o sulfato, espécie de enxofre mais estável, é formado. Em ambientes redutores, o sulfato é utilizado comoceptor de elétrons por bactérias redutoras de sulfato (BRS) e a formação de sulfeto é favorecida, passível de oxidação por via química ou biológica (LENS, 2009).

Figura 2.1 - Conversões presentes no ciclo biológico do enxofre sob condições oxigênicas e anoxigênicas.



Fonte: Adaptado de Madigan (2010).

Diversos compostos reduzidos de enxofre são utilizados como doadores de elétrons por bactérias sulfurosas, sendo o sulfeto de hidrogênio, o enxofre elementar (S^0) e o tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$), as formas sulfurosas comumente adotadas como doadoras de elétrons. Embora bactérias oxidadoras de sulfeto (BOS) possam utilizar o tiosulfato como doador de elétrons, o mesmo é formado apenas quimicamente, não sendo integrante do ciclo biológico do enxofre (KUENEN, 1975). A oxidação do sulfeto ocorre em etapas, nas quais inicialmente o enxofre elementar é formado. Quando há depleção de sulfeto disponível, ganho energético adicional pode ser obtido a partir da oxidação de enxofre elementar a sulfato. Na maioria dos casos o produto final de oxidação é o sulfato, gerando um composto de enxofre com estado de oxidação +6, equivalente à uma doação de 8 elétrons (MADIGAN, 2010).

Uma vez que a formação de enxofre elementar é uma reação de equilíbrio com limitações termodinâmicas, cerca de 95% do sulfeto pode ser convertido a enxofre elementar, de modo que a formação de sulfato é inevitável, ainda que em pequenas proporções (JANSSEN *et al.*, 1999). Ainda que somente a quantidade de oxigênio requerida, determinada a partir de cálculos estequiométricos, seja disponibilizada e condições propícias para prevalência da oxidação parcial estejam presentes, estudo realizado por JANSSEN *et al.* (1998) concluiu que cerca de 10% do sulfeto de hidrogênio é oxidado completamente a sulfato.

2.2.1 Íon Sulfato: redução e características associadas

Íon presente em águas marinhas, o sulfato é a forma mais oxidada de enxofre, passível de ser reduzido por bactérias redutoras de sulfato, grupo amplamente distribuído na natureza (MADIGAN, 2010). Embora não tóxico e não volátil, a emissão do sulfato promove o desequilíbrio no ciclo biogeoquímico do enxofre gerando impactos associados ao solo e cursos d'água, tais como acidez e solubilização de metais pesados (CAMILOTI, 2012).

Em ambientes anóxicos, a redução de sulfato possui doadores de elétrons como fator limitante, ocorrendo somente quando matéria orgânica suficiente está presente. Sendo assim, a disposição de efluentes com elevados teores de matéria orgânica pode favorecer a redução de sulfato e consequente formação de sulfeto de hidrogênio (MADIGAN, 2010).

Segundo ZHANG *et al.* (2008), a faixa de concentração típica de sulfato em efluentes domésticos encontra-se entre 40 e 200 $\text{mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, sendo essa a principal espécie de enxofre presente. Estudo realizado por Garcia *et al.* (2015) caracterizou a composição do esgoto bruto afluente à ETE Arrudas após o tratamento preliminar, apresentando concentrações de sulfato, entre 17,4 e 55,9 $\text{mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$.

A redução do sulfato pode ser realizada por duas rotas metabólicas, assimilatória ou desassimilatória, promovendo a formação de sulfeto, espécie presente em diversos processos biogeoquímicos. Diversos organismos como plantas superiores, algas, fungos e procariotas, utilizam o sulfato como fonte de enxofre para a síntese celular. Sendo assim, a redução assimilatória do sulfato consiste na conversão de sulfato a enxofre orgânico na forma de aminoácidos. Nesse processo, o sulfeto é gerado em pequenas proporções a partir da decomposição anaeróbia de matéria orgânica constituída de enxofre (MADIGAN, 2010).

Ao contrário do mecanismo anteriormente descrito, a redução desassimilatória reduz o sulfato a sulfeto de hidrogênio. Nessa via de redução, o sulfeto é produzido em larga escala e excretado pelas células, tornando-se disponível para reagir com outros organismos ou metais (sulfetos metálicos). A reação desassimilatória ocorre por microrganismos anaeróbios estritos de diversos gêneros, entre eles: *Desulfurella*, *Desulfomicrobium*, *Desulfomonile*, *Desulfovibrio*, *Desulfobulbus*, *Desulfomonas*, *Desulfobacter*, *Desulfonema*, *Desulfobacterium*, *Desulfobotulus*, *Desulfobacula*, *Desulforhopalus*, *Desulfarculus*, *Desulfacinum*, *Sulfurospirillum*, *Campylobacter*, *Thermodesulfobacterium* e *Thermodesulforhabdus* (MADIGAN, 2010; POKORNA; ZABRANSKA, 2015).

2.2.2 Íon sulfeto: formação e características relacionadas

O sulfeto de hidrogênio é um gás incolor e inflamável com odor ofensivo de “ovo podre”, irritante e asfíxiante, detectável em baixas concentrações no ar, em geral, abaixo de 2 ppm_v. A toxicidade aguda do gás para humanos é elevada, sendo necessários apenas de 2 a 5 ppm_v para que efeitos relacionados sejam observados. O sulfeto é facilmente detectável pelo sabor ou odor e por essa razão não há limite estabelecido para o composto em águas de abastecimento humano. A faixa de percepção olfativa é a partir de 0,01 ppm_v e a fadiga olfativa ocorre a 100 ppm_v (EPA, 2010; WHO, 2011). A exposição a concentrações superiores à 100 ppm_v pode ocasionar efeitos severos como edema pulmonar e morte. Demais efeitos e sintomas relacionados à exposição ao sulfeto de hidrogênio são expostos na Tabela 2.2.

Tabela 2.2 - Efeitos e sintomas relacionados à exposição de sulfeto de hidrogênio para diferentes concentrações.

Concentração (ppm _v)	Sintomas/Efeitos
0,01 – 1,5	Limite de odor
2-5	Exposição prolongada pode provocar náusea, irritação nos olhos, dor de cabeça ou perda de sono.
20	Possível fadiga, perda de apetite, dor de cabeça, irritação, tontura
50-100	Perturbação digestiva e perda de apetite.
100	Tosse, irritação nos olhos, perda olfativa após 2-15 minutos. Respiração alterada e sonolência após 15-30 minutos. Irritação na garganta após 1 hora. Possibilidade de morte após 48 horas.
200-300	Possibilidade de edema pulmonar após exposição prolongada
500-700	Sérios danos aos olhos em 30 minutos. Morte após 30-60 minutos.
700-1000	Colapso após 1 ou 2 respirações, morte em minutos
1000-2000	Morte instantânea

Fonte: OSHA (2016).

Cerca de 90% do sulfeto presente na atmosfera é originado a partir de fontes naturais, sendo que a maior parte do gás liberado para o ar advém de pântanos e vulcões. No entanto, a emissão de sulfeto de hidrogênio pode estar relacionada a origens antropogênicas, tais como: plantas de processamento de gás natural, estações de tratamento de águas residuárias, indústria de papel e celulose e curtumes (ATSDR, 2006; EPA, 2010).

O sulfeto possui alta reatividade com alguns cátions metálicos, dando origem a compostos pouco solúveis, denominados sulfetos metálicos. A formação de sulfetos metálicos resulta no acúmulo de compostos reduzidos de enxofre no estado sólido, formados em ambientes

anaeróbios, como sedimentos marinhos e pântanos. Além dos sulfetos metálicos, como a pirita (FeS_2), o elemento de enxofre em seu estado sólido está presente naturalmente em rochas e combustíveis fósseis (LENS, 2009).

Aspectos negativos relacionados aos compostos sulfurosos estão principalmente associados à redução de compostos de enxofre e formação de sulfeto. A geração de sulfeto de hidrogênio possui impactos ambientais negativos tais como mau cheiro relacionado à poluição de cursos d'água, corrosão de estruturas de aço e concreto, lixiviação de metais pesados, entre outros (POKORNA; ZABRANSKA, 2015).

Sulfeto de hidrogênio e suas formas iônicas são raramente presentes em águas naturais. Sua ocorrência em águas superficiais se dá principalmente devido à ausência de oxigênio dissolvido associada à degradação anaeróbia biológica de substâncias orgânicas com enxofre em sua composição ou por redução de tiosulfatos, enxofre elementar, sulfitos e sulfatos por BRS. Compostos de enxofre em qualquer forma oxidada, sob condições anaeróbias são inevitavelmente reduzidos a sulfetos, podendo ser transferidos para o biogás como sulfeto de hidrogênio gasoso em função das condições ambientais prevalentes (POKORNA; ZABRANSKA, 2015).

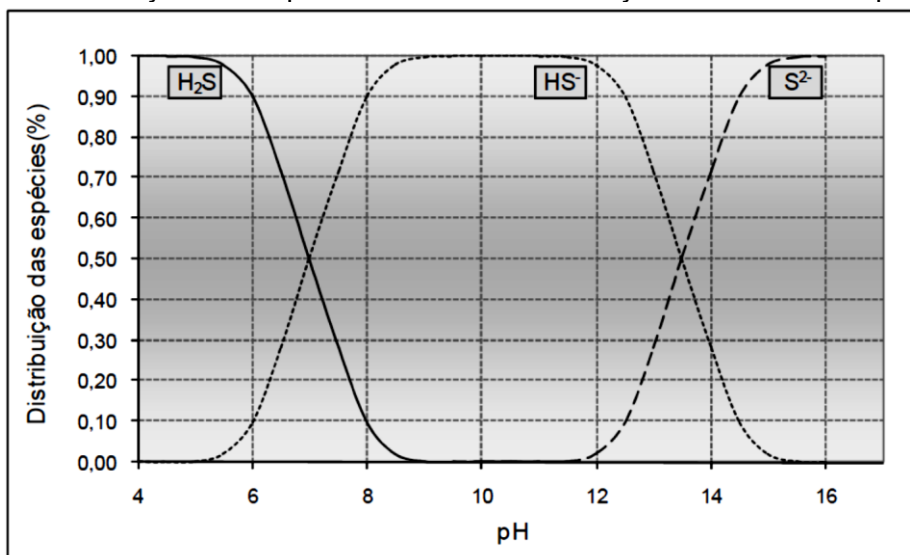
A formação de sulfeto é a maior limitação associada ao tratamento anaeróbio de águas residuárias ricas em sulfato por diversas razões, a saber: em baixas concentrações o sulfeto é relacionado a problemas odorantes e em elevadas concentrações pode gerar toxicidade aos microrganismos presentes no tratamento anaeróbio, além de promover problemas de corrosão nos sistemas de tratamento. A depender da carga de sulfato e do pH no interior do reator anaeróbio, podem ser determinadas concentrações de sulfeto no biogás da ordem de centenas de ppmv a 2-3% (v/v) (JANSEN *et al.*, 2009). O sulfeto produzido em reatores anaeróbios é distribuído entre as formas S^{2-} , HS^- , H_2S dissolvido, H_2S presente no biogás e sulfetos metálicos insolúveis de acordo com seu equilíbrio físico-químico (MADIGAN, 2010; CHERNICHARO, 2016). Em solução, o composto se dissocia segundo as reações (LENS *et al.*, 1998):



Conforme apresentado na Figura 2.2, a distribuição das espécies dissociadas varia em função do pH. Em pH neutro, as espécies H_2S e HS^- encontram-se igualmente distribuídas, de modo

que apenas a primeira dissociação (2.1) do sulfeto possui relevância. Pequenas variações de pH na faixa de 6 a 8 afetam expressivamente a distribuição das espécies de sulfeto de hidrogênio em solução.

Figura 2.2 - Distribuição das espécies de sulfeto em solução de acordo com pH, para 25°C.



Fonte: Chernicharo (2016).

Os principais aspectos positivos e negativos inerentes à formação de sulfeto em reatores anaeróbios são apresentados na Tabela 2.3. Embora aspectos negativos sejam apresentados, se associado à etapa subsequente de remoção de sulfeto e formação de S⁰, o tratamento anaeróbio torna-se um método biológico para remoção sulfato de águas residuárias.

Tabela 2.3 - Efeitos relacionados à formação de sulfeto em reatores anaeróbios.

Desvantagens	Vantagens
<ul style="list-style-type: none"> - Menor remoção de DQO devido à presença de sulfeto no efluente; - Potencializa a corrosão das estruturas do reator e do entorno; - Menor geração de metano; - Baixa qualidade do biogás e necessidade de purificação; - Potencializa a emissão de maus odores; - Pode atingir níveis tóxicos; 	<ul style="list-style-type: none"> - Remoção de compostos oxidados de enxofre presente no afluente; - Remoção de metais pesados; - Precipitação de sulfetos metálicos;

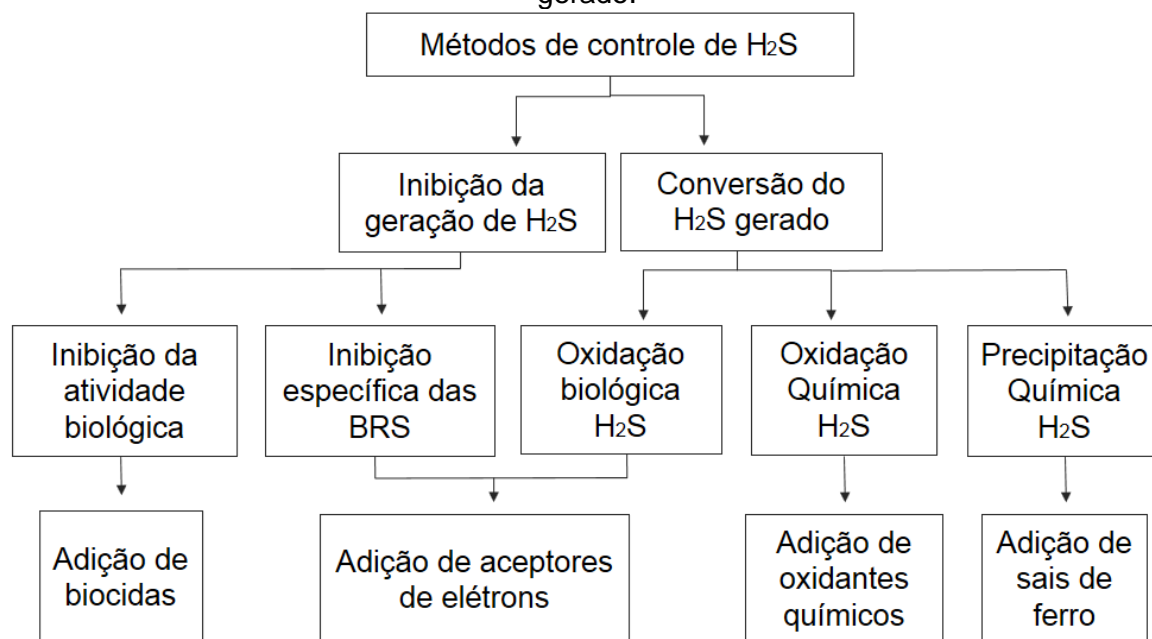
Fonte: Adaptado de Hulshoff-pol *et al.* (1998).

2.3 Processos de controle de sulfeto de hidrogênio

O controle do sulfeto de hidrogênio pode ser realizado por diferentes métodos que promovam a inibição da sua formação ou a eliminação do gás gerado, apresentados na Figura 2.3. A escolha

do método mais adequado para remoção de sulfeto de hidrogênio ocorre em função de considerações técnicas e econômicas (LENS, 1998).

Figura 2.3 - Métodos de controle a partir de inibição da geração ou da eliminação do H₂S gerado.



Fonte: Adaptado de Garcia De Lomas *et al.* (2005) e Zhang *et al.* (2008).

Os métodos relacionados à não geração do sulfeto de hidrogênio estão associados à inibição da atividade biológica geral a partir da aplicação de biocidas ou inibição específica das BRS, através da adição de aceptores de elétrons alternativos como oxigênio, nitrito e nitrato (ZHANG *et al.*, 2008). A inibição de atividade biológica não é viável em tratamentos biológicos uma vez que compromete o processo de degradação da matéria orgânica presente em reatores UASB. A inibição específica das bactérias redutoras de sulfato tornaria o sistema mais complexo, reduzindo assim uma das grandes vantagens atribuídas ao tratamento anaeróbio de efluentes domésticos, a simplicidade operacional.

Diante do exposto, os métodos de controle de H₂S dissolvido aplicáveis em tratamentos biológicos são relacionados à conversão do sulfeto gerado. Nesse sentido, deve-se converter o sulfeto gerado por meio de precipitação química (a partir da adição de sais de ferro), oxidação química ou biológica.

A oxidação química de sulfeto ocorre a partir de diversos processos, a saber: aeração, via química ou eletroquímica a partir da adição de cloro, ozônio, permanganato de potássio e peróxido de hidrogênio (CADENA; PETERS, 1988; LENS, 1998; ZHANG *et al.*, 2008).

Devido à velocidade de reação relativamente baixa, a adição de peróxido de hidrogênio possui efeito residual enquanto compostos de cloro e permanganato de potássio implicam na rápida remoção de sulfeto sem promover o mesmo efeito (CADENA; PETERS, 1988). A depender do pH em que as conversões ocorrem, o processo de oxidação química gera como subprodutos S^0 , $S_2O_3^{2-}$ e SO_4^{2-} (LENS, 1998).

Processos químicos de remoção de sulfeto possuem como vantagens elevadas eficiências de remoção e baixo tempo de contato (5 a 30 minutos). No entanto, possuem como desvantagens alto custo operacional, necessidade de aeração e aquecimento, associadas à alta demanda energética do processo e utilização de substâncias químicas, passíveis de gerar subprodutos indesejados, como o ácido sulfúrico (CADENA; PETERS, 1988; JENSEN; WEBB, 1995). Devido aos custos inerentes ao uso de produtos químicos, demanda energética e subprodutos gerados no tratamento químico, técnicas alternativas de remoção de sulfeto são necessárias (KOBAYASHI *et al.*, 1983).

A oxidação biológica é realizada por sulfobactérias sob condições aeróbias, anóxicas ou anaeróbias. Nas reações de oxidação biológica, os compostos reduzidos de enxofre - H_2S , S^0 e $S_2O_3^{2-}$ - são utilizados como doadores de elétrons por bactérias fototróficas ou quimio litotróficas responsáveis pela conversão dos compostos reduzidos a enxofre elementar, no caso de oxidação parcial, ou sulfato, oxidação completa (TANG *et al.*, 2009; MADIGAN, 2010).

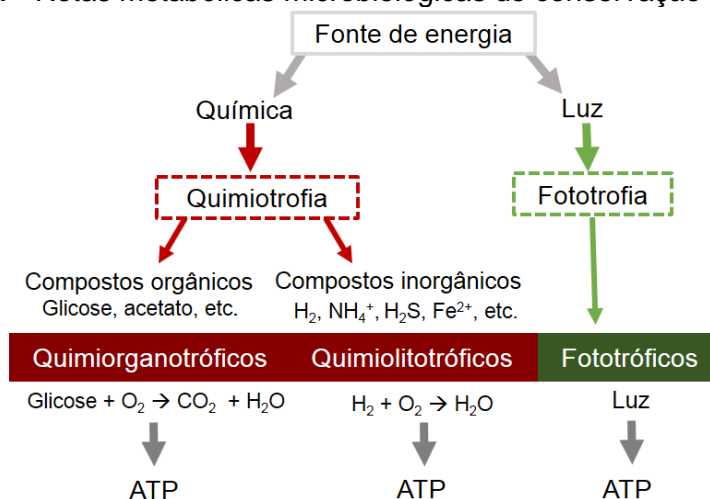
Segundo Janssen *et al.* (1999), sob condições limitantes de sulfeto a adoção de bactérias quimiotróficas do gênero *Thiobacillus* é vantajosa devido à sua elevada afinidade com o composto, sendo equiparável à oxidação química. Apesar dos aspectos positivos associados à via aeróbia de oxidação, como desvantagens têm-se requisitos energéticos para aeração, complexidade operacional e riscos relacionados à operação dos reatores devido ao teor de oxigênio, principalmente quando uma corrente gasosa como gás natural ou biogás é tratada (TANG *et al.*, 2009).

A via biológica anaeróbia é realizada por sulfobactérias verdes e púrpuras e apresenta vantagens como baixo custo, elevada eficiência e simplicidade operacional. No entanto, o processo possui como principais entraves à sua aplicação o requisito de luminosidade. Em caso de utilização de luz solar é necessária a adoção de material transparente e em caso de iluminação artificial, a inserção de luz (JENSEN; WEBB, 1995; JANSSEN *et al.*, 1999).

2.4 Oxidação biológica de sulfeto de hidrogênio

A remoção biológica de sulfeto presente em correntes líquidas ou gasosas pode ser realizada diretamente a partir da atividade de BOS fototróficas ou quimilitotróficas, assim denominadas devido à fonte de energia e de carbono utilizadas, conforme ilustrado na Figura 2.4. As conversões podem ocorrer em condições aeróbias, anóxicas ou anaeróbias, com diversos possíveis aceptores de elétrons: oxigênio, nitrato e dióxido de carbono (CAMILOTI, 2012).

Figura 2.4 - Rotas metabólicas microbiológicas de conservação de energia.



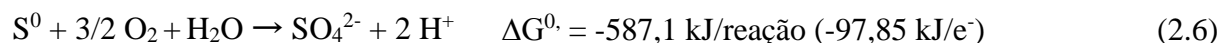
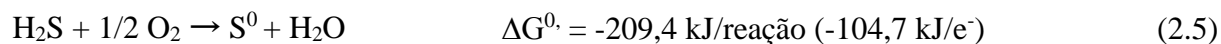
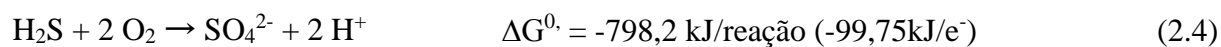
Fonte: Adaptado de Madigan (2010).

As BOS são agrupadas em função do composto de enxofre utilizado, coloração e condições ambientais em que se desenvolvem (MADIGAN, 2010). Uma vez que diversos microrganismos são capazes de oxidar, reduzir e desproporcionar espécies sulfurosas, a diversidade microbiológica é influenciada por condições ambientais prevalentes, tais como: pH, temperatura, concentrações de sulfeto, enxofre e sulfato, potencial redox, presença de outras espécies doadoras e aceptoras de elétrons, disponibilidade de luz e matéria orgânica (ELSHAHED *et al.*, 2003).

Segundo Janssen *et al.* (1999), a conversão de sulfeto a enxofre elementar pode ser relacionada a dois processos biotecnológicos distintos. O primeiro ocorre em condições anaeróbias a partir da realização de fotossíntese anoxigênica por microrganismos pertencentes às famílias *Chlorobiaceae* e *Chromatiaceae*. Diferentemente da fotossíntese oxigênica, na qual a água é utilizada como doador de elétrons, nesse processo o H_2S é utilizado, conforme a reação 2.3.



O segundo processo está relacionado à atividade de bactérias quimiolitotróficas aeróbias, pertencentes ao gênero *Thiobacillus* e é representado a partir das seguintes reações (MADIGAN, 2010):

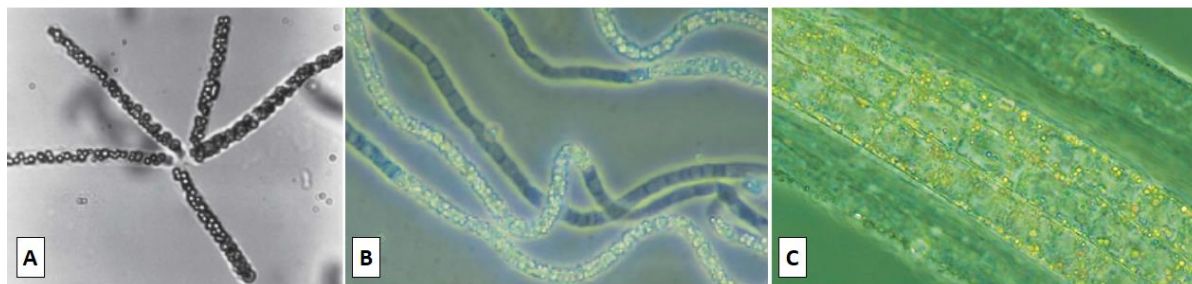


A oxidação biológica de sulfeto de hidrogênio tem sido investigada utilizando bactérias oxidadoras de sulfeto fototróficas e quimiolitotróficas. Ao contrário das demais bactérias fototróficas, as da espécie *Chlorobium limicola* têm se destacado devido à produção de enxofre extracelular. Uma vez que o desempenho de sistemas fototóxicos é influenciado principalmente pela luz disponível, estudos já avaliaram tanto a utilização de energia solar como diversas formas de iluminação artificial. Todavia, a limitação no que diz respeito ao requisito de luminosidade permanece como limitação à aplicabilidade de reatores fototóxicos em larga escala (TANG *et al.*, 2009; MADIGAN, 2010).

2.4.1 Oxidação biológica de sulfeto a enxofre elementar: via aeróbia

Diversos compostos reduzidos de enxofre são utilizados como doadores de elétrons por sulfobactérias incolores, denominadas como incolores para diferenciá-las das bactérias sulfurosas que possuem pigmentação, bactérias verdes e púrpuras. Existem diversos gêneros de bactérias incolores, agrupados em função de faixa ótima de pH, grupo filogenético e composto inorgânico utilizado como doador de elétron. São exemplos de gêneros de bactérias incolores: *Thiobacillus*, *Acidithiobacillus*, *Halothiobacillus*, *Achromatium*, *Beggiatoa*, *Starkeya*, *Thiothrix*, *Thioploca*, *Thiomonas*, *Thiomicrospira*, *Thermothrix*, *Thiovulum*, *Thiosphaera* e *Thermothrix* (MADIGAN, 2010). A Figura 2.5 apresenta imagens microscópicas de alguns dos gêneros citados nas quais é possível notar glóbulos brancos ou amarelados, relativos à formação de enxofre elementar.

Figura 2.5 - (A) Bactérias do gênero *Thiothrix* isoladas com destaque para glóbulos internos de enxofre elementar (B) Bactérias oxidadoras de sulfeto do gênero *Beggiatoa* isoladas a partir de efluente de uma estação de tratamento de esgoto (C) Células de espécies do gênero *Thioploca* contendo grânulos amarelos relativos ao enxofre elementar armazenado de modo intracelular.



Fonte: Madigan, 2010.

Bactérias quimiolitotróficas oxidadoras de sulfeto possuem diversas propriedades fisiológicas e morfológicas, passíveis de se desenvolver em ambientes contendo compostos inorgânicos de enxofre, como sulfeto, enxofre elementar e tiosulfato, ou na presença de compostos orgânicos de enxofre (MADIGAN, 2010).

Algumas bactérias oxidadoras de sulfeto, como as do gênero *Beggiatoa*, *Thiothrix* e *Thiospira*, o oxidam parcialmente a enxofre elementar e o depositam no interior da célula com função de reserva energética. Na ausência de sulfeto, energia adicional é obtida a partir da segunda etapa da oxidação, de enxofre elementar a sulfato. O acúmulo intracelular do enxofre produzido dificulta a sua extração. Sendo assim, a utilização de sulfobactérias do gênero *Thiobacillus* possui como principal vantagem a produção de enxofre extracelular (MADIGAN, 2010; CAMILOTI, 2012). Diversos processos microbiológicos envolvendo bactérias do gênero *Thiobacillus* são descritos na literatura, comprovando a viabilidade da oxidação biológica aeróbia (LENS, 1998).

O processo THIOPAQ®, sistema biotecnológico que visa a oxidação de H_2S , promove a absorção do sulfeto de hidrogênio na forma gasosa em um meio alcalino seguido de oxidação biológica realizada por sulfobactérias incolores, naturalmente presentes no meio, denominadas *Thiobacilli* (CLINE *et al.*, 2003). Sistema desenvolvido em parceria pela Shell Global Solutions e Paques B.V., possibilita a oxidação parcial de sulfeto de hidrogênio a enxofre elementar (MOKHATAB *et al.*, 2006), sendo aplicável para a remoção de enxofre em diversas tipologias industriais, como de papel e celulose, química e de mineração (CLINE *et al.*, 2003).

O sistema THIOPAQ® possui como principais vantagens: custos relativamente baixos (opera sob condições ambientais de temperatura e pressão), possui capacidade de tratar altas cargas de

H₂S, elevada produção de enxofre elementar e regeneração da solução cáustica utilizada, (reduzindo o consumo de produtos químicos). As partículas de enxofre elementar em suspensão no reator são removidas a partir de um decantador, ao passo que a solução alcalina é recirculada para a coluna de absorção de gases (DE GRAAFF, 2012).

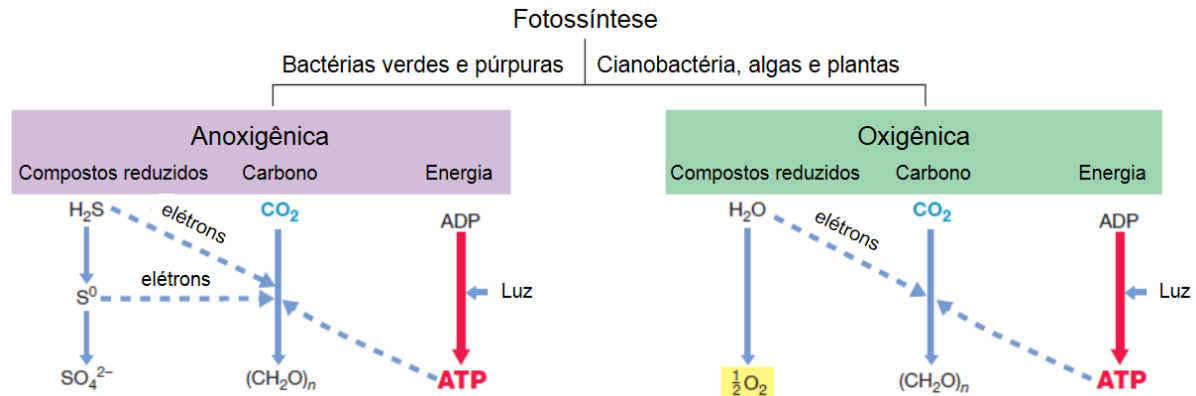
A utilização de bactérias quimiolitotróficas é vantajosa devido aos baixos requisitos nutricionais e elevada eficiência de oxidação de sulfeto. A oxidação biológica aeróbia tem sido amplamente estudada a partir de diversas espécies de sulfobactérias, demonstrando a viabilidade do processo de oxidação biológica de sulfeto via bactérias incolores, com destaque para o gênero *Thiobacilli*. Todavia, os riscos inerentes à operação do reator sob condições aeróbias devem ser ressaltados, principalmente ao tratar correntes como gás natural ou biogás (JANSSEN *et al.*, 1998; TANG, *et al.*, 2009). Em geral, a mistura de ar com biogás é indesejável devido ao maior risco de explosão relacionado à mistura de metano e oxigênio (KRAYZELOVA *et al.*, 2015).

2.4.2 Oxidação biológica de sulfeto a enxofre elementar: via anaeróbia

Em condições anaeróbias, a fotossíntese anoxigênica é realizada por sulfobactérias verdes e púrpuras que utilizam a luz como fonte de energia para transferência dos elétrons de compostos reduzidos de enxofre para compostos de carbono (FRIEDRICH *et al.*, 2005; MADIGAN, 2010).

A Figura 2.6 exemplifica as principais diferenças entre os processos de fotossíntese oxigênica e anoxigênica. Na fotossíntese oxigênica, a molécula de água é utilizada como doador de elétrons e o gás carbônico, como fonte inorgânica de carbono, resultando na formação de oxigênio. Diferentemente do processo anterior, a fotossíntese anoxigênica substitui a molécula de água por compostos reduzidos de enxofre, convertendo-os a enxofre elementar ou sulfato, a depender das condições presentes no meio. Dessa forma, assim como a fotossíntese oxigênica, o processo anoxigênico utiliza o gás carbônico como fonte de carbono e a luz como fonte de energia (MADIGAN, 2010).

Figura 2.6 - Compostos e microrganismos envolvidos nos processos de fotossíntese anoxigênica e oxigênica.

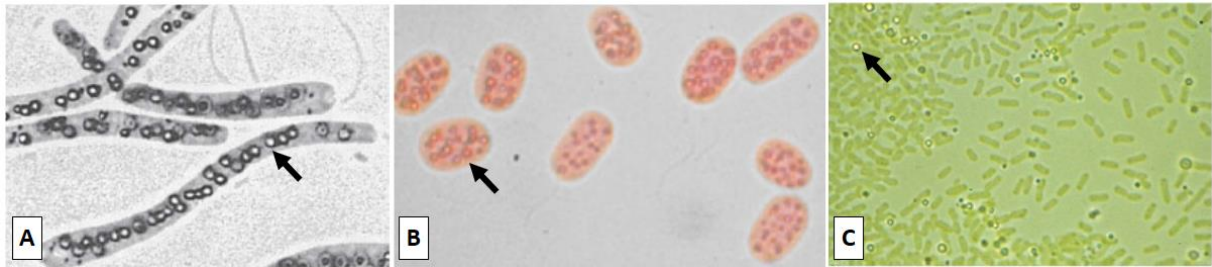


Fonte: Adaptado de Madigan (2010).

As bactérias fototróficas púrpuras são representadas pelos gêneros *Chromatium*, *Allochromatium*, *Halochromatium*, *Rhodochromatium*, *Thermochromatium*, *Isochromatium*, *Marichromatium*, *Thioalkalicoccus*, *Thioflavicoccus*, *Thiohalocapsa*, *Thiorhodovibrio*, *Thiorhodococcus*, *Thiocapsa*, *Thiocystis*, *Thiococcus*, *Thiospirillum*, *Thiodictyon*, *Thiopedia*, *Thiolamproyum*, *Lamprobacter* e *Lamprocystis*. Alguns gêneros são de especial interesse devido à formação de enxofre extracelular, são eles: *Ectothiorhodospira*, *Thiorhodospira* e *Halorhodospira* (MADIGAN, 2010). A produção de enxofre elementar extracelular é vantajosa, uma vez que o enxofre acumulado intracelularmente, impossibilita a separação de células e enxofre (JANSSEN *et al.*, 1999; JENSEN; WEBB, 1995).

Os principais gêneros representantes das bactérias verdes são: *Chlorobium*, *Prosthecochloris*, *Pelodictyon*, *Ancalochloris* e *Chloroherpeton*. Ao contrário da maioria das bactérias púrpuras, o enxofre produzido por bactérias verdes é extracelular. Tais bactérias possuem ainda como vantagem o baixo requisito de luminosidade, expressivamente inferior ao requerido por organismos fototróficos de modo geral (RABAEY *et al.*, 2006; TANG *et al.*, 2009; MADIGAN, 2010). A Figura 2.7 ilustra bactérias verdes e púrpuras oxidadoras de sulfeto, assim como o enxofre elementar formado via fotossíntese anoxigênica.

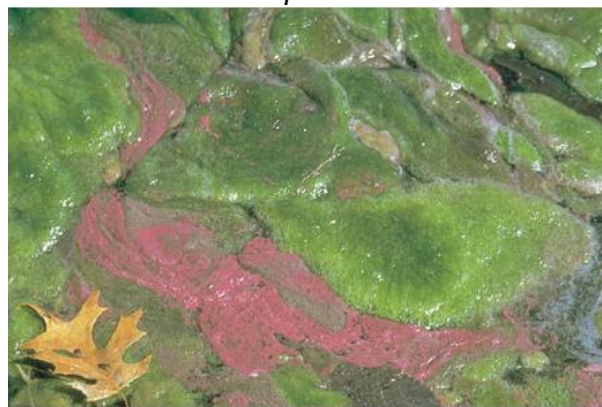
Figura 2.7 - (A) Imagem microscópica de sulfobactérias púrpuras do gênero *Thiospirillum* (B) Microscopia de células de bactérias púrpuras do gênero *Isochromatium* (C) Bactérias verdes oxidadoras de sulfeto do gênero *Chlorobium*. As setas destacam a presença de glóbulos de enxofre elementar.



Fonte: Madigan (2010).

As bactérias sulfurosas púrpuras e verdes possuem espectros de absorção de luz distintos, em função do tipo de bacterioclorofila que possuem. As bactérias púrpuras sulfurosas apresentam em sua maioria a bacterioclorofila *a*, com máxima absorção de luz entre 800 e 925 nm. Já para as bactérias sulfurosas verdes, o máximo de absorção de luz ocorre para o espectro entre 705 e 755 nm, devido à presença de bacterioclorofilas distintas das comumente presentes em bactérias púrpuras (*c*, *d* ou *e*). Sulfobactérias púrpuras exigem menor iluminação, se comparadas às sulfobactérias verdes. Devido à menor luminosidade requerida, podem ser encontradas em zonas anóxicas não iluminadas de lagos ou em outros ambientes aquáticos estratificados em que há concentrações de sulfato suficiente e condições propícias para que ocorra sua redução e acúmulo de H_2S , proporcionando o seu desenvolvimento, conforme ilustrado na Figura 2.8 (MADIGAN, 2010).

Figura 2.8 - Proliferação de sulfobactérias púrpuras da espécie *Lamprocystis roseopersicina*.



Fonte: Madigan (2010).

A eficiência de remoção de sulfeto via bactérias fototróficas foi demonstrada como similar à via quimiolitotrófica, tornando-a um processo atrativo devido à simplicidade nutricional e requisitos energéticos (TANG, *et al.*, 2009). A via biológica anaeróbia apresenta como

vantagens: baixo custo, elevada eficiência e simplicidade operacional. Nesse contexto, a oxidação anaeróbia pode ser adotada para pós-tratamento de efluentes de reatores UASB. Apesar das vantagens relacionadas ao processo biológico anaeróbio, o uso em larga escala de bactérias fotossintéticas possui como grande desvantagem o requisito de iluminação e a necessidade de material transparente para confecção do reator que permita a passagem de luz, em caso de utilização de luz solar como fonte de energia (JENSEN; WEBB, 1995; JANSSEN *et al.*, 1999; SYED *et al.*, 2006).

2.5 Enxofre elementar biológico: características e perspectivas de aproveitamento

O termo “enxofre biológico” é adotado para referir-se ao composto de coloração branca ou amarelo-palha, produzido em processos biotecnológicos de remoção de sulfeto. Possui características hidrofílicas, boa sedimentabilidade sob condições de formação propícias e estabilidade em pH básico (7-10) e na faixa de temperatura entre 30 e 47°C. O enxofre produzido biologicamente não é um composto padrão e portanto não deve ser associado ao átomo de enxofre (JANSSEN *et al.*, 1999; JANSSEN, 2009).

Estudo realizado por Janssen *et al.* (1999) avaliou a natureza do enxofre elementar produzido biologicamente a partir da realização de um teste de partição com fases polar (água) e apolar (hexadecano). O enxofre elementar produzido biologicamente permaneceu na fase polar e o átomo padrão de enxofre, na apolar. A possível explicação para a diferente característica apresentada para o enxofre biológico deve-se ao fato do núcleo apolar formado por cristais de enxofre ser envolto por polímeros negativamente carregados, atribuindo assim caráter hidrofílico ao enxofre biológico (JANSSEN *et al.*, 1994; JANSSEN *et al.*, 1999).

Silva *et al.* (2002) avaliaram a composição do precipitado de cor amarelada observado nos interstícios do meio suporte. O precipitado constituía-se de elementos como sódio, alumínio, ferro, potássio, magnésio, fósforo, cálcio e cerca de 74% da sua constituição era referente ao elemento de enxofre. Aproximadamente 87% do total de enxofre presente era relativo à sua forma elementar e 13%, à combinação de enxofre, sódio e potássio.

A recuperação do enxofre produzido é um aspecto relevante no que diz respeito à aplicação de biorreatores oxidadores de sulfeto. Dentre diversos processos de separação do enxofre formado (filtração, flotação e extração) a sedimentação das partículas formadas representa o método mais atrativo no que diz respeito a custo e simplicidade. No entanto, a eficiência do processo

de sedimentação é dada em função das propriedades de sedimentabilidade da partícula (JANSSEN *et al.*, 1999; MADIGAN, 2010).

O enxofre elementar produzido via biológica é facilmente segregado e a sua formação é altamente eficiente em termos de consumo energético e qualidade final do efluente (LEVINE, *et al.*, 2004; VANNINI *et al.*, 2008). As dimensões dos glóbulos de enxofre aumentam com elevadas cargas de sulfeto aplicadas (JANSSEN *et al.*, 1999), no entanto, as interações entre as partículas são fracas e, por isso, as mesmas são rompidas pela força de cisalhamento promovida por aeração vigorosa ou ocorrência de turbulência no interior do reator (JANSSEN *et al.*, 1999). Segundo Janssen *et al.* (1999), após 50 dias de operação de um biorreator de leito expandido, 90% dos sólidos efluentes do reator relativos ao enxofre elementar formado apresentaram velocidade de sedimentação superior a 25 m.h^{-1} , de modo a evidenciar a propriedade de boa sedimentabilidade do enxofre biológico.

Estudo realizado por Beristain-Cardoso *et al.* (2008) recuperou 71% do sulfeto consumido ($70 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) na forma de enxofre elementar a partir da utilização de um decantador no final da linha de tratamento estudada. A produção de enxofre elementar é vantajosa pela possibilidade de aproveitamento em processos industriais como produção de ácido sulfúrico e no setor agrícola, uma vez que o composto constitui a base de diversos fertilizantes e fungicidas (VAN-LIER *et al.*, 2001; VANNINI *et al.*, 2008; KLOK *et al.*, 2012; PAQELL, 2016).

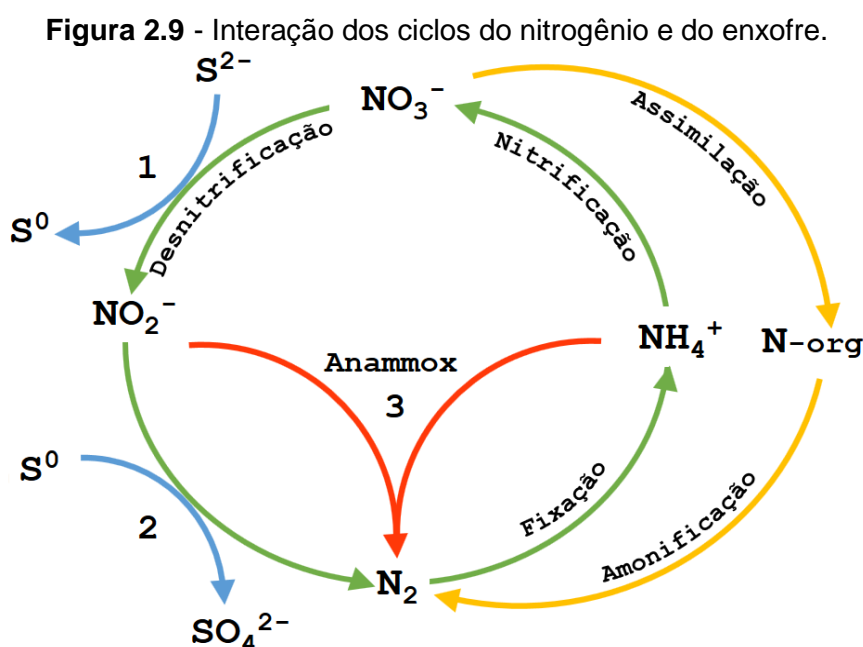
2.6 Interação dos ciclos de enxofre e nitrogênio

Os ciclos do nitrogênio e do enxofre podem realizar diversas interações, representando uma alternativa à remoção simultânea de compostos nitrogenados e sulfurosos de águas residuárias (FORESTI *et al.*, 2006). A remoção do nitrogênio presente em águas residuárias pode ser realizada a partir da desnitrificação autotrófica utilizando compostos oxidados de nitrogênio como aceptores de elétrons e compostos inorgânicos reduzidos de enxofre como doadores de elétrons (FDZ-POLANCO *et al.*, 2001; BERISTAIN-CARDOSO *et al.*, 2006).

Uma vez que efluentes de reatores anaeróbios possuem compostos reduzidos como sulfeto de hidrogênio e nitrogênio amoniacal, a desnitrificação autotrófica é um processo aplicável. No entanto, para viabilização do processo é necessária a adição de uma forma oxidada como acceptor de elétrons, o nitrato (FORESTI *et al.*, 2006). Apesar da viabilidade da desnitrificação autotrófica ter sido demonstrada (LIU *et al.*, 2015), a adoção do processo utilizando efluente

anaeróbico requer maiores investigações devido aos diversos compostos presentes no efluente e possíveis interferências no processo (SOUZA, 2011).

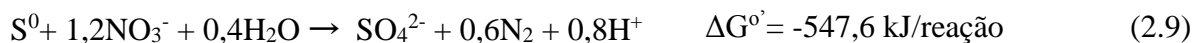
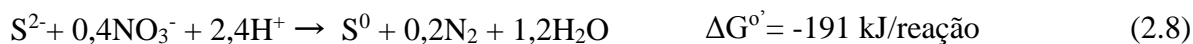
A interação dos ciclos do nitrogênio e do enxofre encontra-se ilustrada na Figura 2.9, onde é possível observar que a oxidação de compostos reduzidos de enxofre e nitrogênio ocorre a partir da utilização de nitrato (reação 1) e nitrito (reação 2). A reação de oxidação de sulfeto promove a formação de enxofre elementar e reduz nitrato a nitrito, no processo de desnitrificação. No caso de efluentes anaeróbios, pode ocorrer simultaneamente a oxidação do nitrogênio amoniacal, a partir do processo anammox (reação 3), no qual o aceptor de elétrons passa a ser o nitrito. A oxidação de compostos reduzidos de sulfeto via desnitrificação autotrófica combinada com o processo *anammox*, caracteriza o processo DEAMOX -*Denitrifying Ammonium Oxidation*.



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

A oxidação de sulfeto por bactérias desnitrificantes quimiolitotróficas pode levar à formação de enxofre elementar ou sulfato, a depender das condições operacionais. As espécies *Thiomicrospira denitrificans*, *Thiobacillus denitrificans* e *Pseudomonas stutzeri* são capazes realizar oxidação autotrófica de compostos sulfurosos e redução de compostos nitrogenados (GARCIA DE LOMAS *et al.*, 2005; BERISTAIN-CARDOSO *et al.*, 2006; MAHMOOD *et al.*, 2009). Sendo assim, a oxidação biológica sob condições desnitrificantes é uma alternativa que reduz os riscos e custos de aeração associados à oxidação aeróbia (TANG *et al.*, 2009).

A formação de nitrogênio e oxidação dos compostos reduzidos de enxofre são exemplificadas nas equações 2.7-2.9 (BERISTAIN-CARDOSO *et al.*, 2006). O processo de desnitrificação associado à formação de enxofre elementar consome quatro vezes menos nitrato se comparado à oxidação completa a sulfato, conforme apresentado nas equações 2.7 e 2.8.



Reyes-Ávila *et al.* (2004) demonstraram a viabilidade da ocorrência do processo de desnitrificação associada à remoção simultânea de compostos nitrogenados, carbonáceos e sulfurosos. A oxidação do sulfeto a enxofre elementar foi realizada sem sinais de inibição. O estudo apresentou ainda eficiências de remoção para nitrato, acetato e sulfeto de 100%, 69% e 100%, respectivamente.

Estudo realizado por Wang *et al.*, (2005) demonstrou a viabilidade do processo de desnitrificação e dessulfurização simultânea por bactérias da espécie *Thiobacillus denitrificans*. Diferentes relações $\text{S}^{2-}/\text{NO}_3^-$ foram estudadas, sendo a concentração de sulfeto considerada um dos principais fatores intervenientes na eficiência do processo. A partir dos resultados obtidos concluiu-se que visando alcançar elevadas eficiências de remoção de nitrato e sulfeto, a relação $\text{S}^{2-}/\text{NO}_3^-$ deve ser entre 5:3 e 5:2 e a concentração de sulfeto, não superior a $300 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$. A maior conversão de sulfeto a enxofre elementar, 99%, foi alcançada para a condição de menor concentração de sulfeto avaliada, $100 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$.

Chen *et al.*, (2009) analisaram o desempenho de um reator de leito expandido granular em relação à remoção de sulfeto, nitrato e acetato a partir da remoção de sulfeto via desnitrificação. O estudo apresentou eficiências de remoção para nitrato, acetato e sulfeto de 92%, 95% e 97%, respectivamente, valores confirmados a partir do balanço de massa calculado e superiores aos valores reportados em estudos anteriores. Das diversas frações sulfurosas presentes no afluente (totalizando $6,9 \text{ kgS} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$), 70% era relativo a sulfeto, equivalente a $4,8 \text{ kgS} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$. A concentração de sulfeto efluente foi de $12,2 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, referente à 97% de remoção da carga de sulfeto aplicada. A quantificação de enxofre elementar formado foi determinada a partir da diferença entre as frações de enxofre afluente e efluente, resultando em formação de $5,7 \text{ kgS} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ de enxofre elementar.

Liu *et al.*, (2015) avaliaram a formação de enxofre elementar a partir da remoção de nitrogênio e sulfeto em águas residuárias via processo DEAMOX. As reações envolvidas no processo foram realizadas em um reator de leito granular expandido a partir das seguintes bactérias desnitrificantes e anammox: *Alishewanella*, *Thauera* e *Candidatus Anammoximicrobium*. Para a relação S^{2-}/NO_3^- 1,31:1 e carga aplicada de sulfeto equivalente a $405 \text{ gS}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$, verificou-se cerca de 99% de remoção de sulfeto e amônia, com completa conversão de sulfeto a enxofre elementar. Os resultados obtidos neste estudo comprovaram a aplicabilidade do processo DEAMOX como método biológico promissor para remoção de nitrogênio e oxidação parcial de sulfeto a enxofre elementar.

Embora elevadas eficiências de remoção de compostos reduzidos de enxofre e nitrogênio tenham sido demonstradas (WANG *et al.*, 2005; CHEN *et al.*, 2009; BERISTAIN-CARDOSO *et al.*, 2011; LIU *et al.*, 2015), os estudos em sua maioria utilizam efluentes sintéticos com concentrações de sulfeto e amônia superiores às observadas em efluente anaeróbico real. Devido à escassez de informações relativas à ocorrência de desnitrificação autotrófica em relação a reatores fototróficos tratando efluente real com baixas concentrações de sulfeto e amônia, o presente estudo buscou determinar quais conversões nitrogenadas ocorreriam naturalmente no interior dos reatores fototróficos.

2.7 Experiências relacionadas à oxidação biológica de sulfeto em diferentes tipos de reatores

Estudo realizado por Kobayashi e colaboradores (1983) demonstrou a aplicabilidade de remoção de sulfeto por bactérias fotossintéticas em condições favoráveis de iluminação, contato célula/sulfeto e ambiente anaeróbico. O trabalho avaliou o desempenho de dois reatores (com colunas e sistema submerso) para o tempo de detenção hidráulica de 24 horas e carga aplicada de sulfeto de $107 \text{ gS}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$. Cerca de 95% do sulfeto afluente foi convertido a sulfato no reator com colunas a partir da oxidação biológica por sulfobactérias da espécie *Chlorobium limicola*.

Janssen *et al.*, (1996) concluíram ser necessário operar o reator sob altas concentrações de sulfeto com mínimas tensões de cisalhamento possível, a fim de propiciar a aglutinação de partículas de enxofre e melhor sedimentabilidade. Segundo os autores, a estabilidade do enxofre elementar produzido biologicamente varia em função das condições do processo e das especificações do reator em estudo.

Estudo realizado por Henshaw *et al.* (1998) investigou a remoção de sulfeto presente em efluente industrial e conversão a enxofre elementar a partir de oxidação biológica via sulfobactéria *Chlorobium limicola*. Um bioreator com agitação e iluminação artificial de 13,7 L foi operado sob diferentes cargas de sulfeto aplicadas (50,4, 105,6 e 134,4 mgS.L⁻¹.d⁻¹) para o tempo de detenção hidráulica 45 horas e pH próximo à neutralidade (6,8-7,2). A menor carga de sulfeto aplicada resultou na quase totalidade de conversão a sulfato enquanto a concentração mediana apresentou completa conversão do sulfeto afluente removido a enxofre elementar. Condições estáveis não foram alcançadas para a carga mais alta estudada e como resultado observou-se acúmulo de sulfeto no reator.

Resultados obtidos por Annachatre e Suktrakoolvait (2001), demonstraram satisfatória oxidação biológica de sulfeto a enxofre elementar e formação de lodo com condições de sedimentabilidade favoráveis em um reator de leito fluidizado. Do sulfeto afluente, 90% foi oxidado, sendo 76% convertido a enxofre elementar. A eficiência de oxidação do sulfeto variou em função da concentração de oxigênio, carga de sulfeto aplicada e velocidade de fluxo. Para concentrações de oxigênio dissolvido superiores a 0,1 mg.L⁻¹, sulfato foi o principal subproduto, porém o mesmo não ocorreu para concentrações inferiores a 0,1 mg.L⁻¹, sendo o enxofre elementar o subproduto principal da oxidação de sulfeto.

Krishnakumar *et al.* (2005) pesquisaram a eficiência da oxidação biológica de sulfeto em um reator de leito fluidizado (RFLR - *Reverse Fluidized Loop Reactor*). O reator foi inoculado com a espécie *Thiobacillus denitrificans* e alimentado com efluente sintético. Para cargas de sulfeto superiores a 19 kgSm⁻³d⁻¹, a remoção de sulfeto foi próxima a 100% e a formação de enxofre elementar, 80%, valores obtidos sob potencial redox entre -400 e -350 mV (eletrodo de referência Ag/AgCl).

Lohwacharin e Annachatre (2010) avaliaram a eficiência do uso de bioreator sob condições limitadas de oxigênio (0,1-0,2 mg.L⁻¹) na oxidação biológica de sulfeto. O reator foi inoculado com lodo de sistema de lodos ativados tratando efluente doméstico e alimentado com efluente sintético. Do sulfeto oxidado, a conversão a enxofre elementar variou de 50 a 90%, em função da carga de sulfeto aplicada no reator, 2,2 e 4,0 kgS.m⁻³d⁻¹, respectivamente. O estudo realizou ainda um teste de coagulação utilizando cloreto de polialumínio (PAC) para promover a agregação das partículas de enxofre. O ensaio se mostrou eficiente com dosagem ótima de PAC de 0,91 g.L⁻¹ sob condições de pH e temperatura, 7,5 e 30°C.

Fajardo *et al.* (2012) demonstraram a ocorrência simultânea de oxidação de sulfeto e desnitrificação autotrófica em reator em bateladas sequenciais com afluente sintético contendo nitrato. Para a carga de sulfeto aplicada de $450 \text{ g.m}^{-3}\text{d}^{-1}$, as eficiências de remoção de sulfeto e nitrato apresentadas foram de 100% e 67%, respectivamente.

A partir da Tabela 2.4 nota-se que diversos estudos alcançaram elevadas eficiências de remoção de sulfeto associadas à oxidação parcial e formação de enxofre elementar. Devido à perda ao longo das tubulações e conexões, torna-se complexa a determinação do enxofre na sua forma elementar, de modo a tornar o balanço de massa uma das limitações inerentes ao estudo de compostos sulfurosos. Dessa forma, diversos estudos (ANNACHHATRE; SUKTRAKOOLVAIT, 2001; KRISHNAKUMAR *et al.*, 2005; LOHWACHARIN; ANNACHHATRE, 2010; LIU *et al.*, 2015) realizaram o balanço de massa assumindo que a fração de sulfeto oxidada faltante equivale à parcela oxidada a enxofre elementar.

Embora diversos estudos relacionados à oxidação biológica tenham sido realizados comprovando a viabilidade do processo biológico (HENSHAW *et al.*, 1998; ANNACHHATRE; SUKTRAKOOLVAIT, 2001; REYES-AVILA *et al.*, 2004; KRISHNAKUMAR *et al.*, 2005; SILVA, 2005; VANNINI *et al.*, 2008; LOHWACHARIN e ANNACHHATRE, 2010; FAJARDO *et al.*, 2012) são ainda escassas as pesquisas que buscaram avaliar a oxidação a enxofre elementar a partir de efluente anaeróbio real, contendo concentrações de sulfeto de hidrogênio dissolvido próximas a $10 \text{ mgS}^{2-}.\text{L}^{-1}$ (SOUZA, 2010), e sem a inoculação dos reatores.

Estudo realizado por Garcia *et al.* (2017) avaliou o desempenho de dois biorreatores fototróficos tratando efluente anaeróbio real no que diz respeito à remoção de sulfeto e à diversidade microbiana. Os reatores eram preenchidos por diferentes meios suportes (anéis de polipropileno e biobob) e foram operados sob três diferentes tempos de detenção hidráulica (24h, 12h e 6h). Os resultados do estudo demonstraram maior eficiência média de remoção de sulfeto em ambos reatores quando operados com TDH de 12h, da ordem de 90%. Os resultados obtidos nesse estudo demonstraram a viabilidade da adoção de reatores fototróficos de baixo custo para a remoção de sulfeto presente em efluentes anaeróbios. A linha de tratamento em questão possui ainda pontos positivos como a não utilização de inóculo e luz solar como fonte de energia. Nesse contexto, o presente trabalho visou complementar estudo realizado por Garcia *et al.* (2017) a partir da identificação das conversões presentes no interior dos biorreatores não consideradas e avaliar a utilização de reatores fototróficos como alternativa de pós-tratamento

de efluente de reator UASB sob TDH inferiores aos avaliados em estudo anterior. Uma vez que os reatores projetados apresentam configuração similar a um decantador de reator UASB (GARCIA, 2014), a redução do TDH até 2 horas visou avaliar a eficiência de oxidação de sulfeto sob condições de TDH próximas às presentes na zona de decantação de reator UASB e possibilidade de inserção do meio suporte na zona de decantação do reator UASB.

Tabela 2.4 - Características de reatores utilizados em estudos prévios de oxidação de sulfeto.

Tipo de reator	Tipo de inóculo	Demanda energética	TDH (h)	Volume (L)	OD (mg.L ⁻¹)	pH	Carga S ²⁻ (gS.m ⁻³ .d ⁻¹)	Remoção S ²⁻ (%)	S ⁰ (%)	Efluente	Referência
Reator anaeróbio com agitação	Lodo anaeróbio	Sim	48	1,3	NA	8,3	294	98	99	Sintético	Reyes-avila <i>et al.</i> , 2004
Reator de leito fluidificado reverso	<i>Thiobacillus denitrificans</i>	Sim	1,5	0,48	-	8	19000	100	80	Sintético	Krishnakumar <i>et al.</i> , 2005
Reator em bateladas sequenciais com espuma de poliuretano	Lodo anaeróbio	Sim	24	10	0,1-0,5	-	134	88	68	Sintético	Silva, 2005
Reator <i>airlift</i>	Lodo aeróbio	Sim	3,8	4,9	0,15	7,6-8,0	4000	90	90	Sintético	Lohwacharin; Annachatre, 2010
Reator UASB	<i>Thiobacillus denitrificans</i>	Não	26,4	1,4	-	8,1	295	100	73	Sintético	Beristain-Cardoso <i>et al.</i> , 2011
Reator em bateladas sequenciais com agitação	<i>Thiobacillus sp.</i>	Sim	24	1	NA	7,5-8,0	450	100	0	Sintético	Fajardo <i>et al.</i> , 2012
Reator de leito granular expandido	<i>Alishewanella</i> , <i>Thauera</i> , <i>Candidatus Anammoximicrobium</i>	Não	12	1,57	NA	7,5	405	99	99	Sintético	Liu <i>et al.</i> , 2015
Reator fototrófico com meio suporte anéis plásticos	Efluente de reator UASB	Não	6	30	-	7,0	14	90%	15	Doméstico	Garcia <i>et al.</i> , 2017
Reator fototrófico com meio suporte biobob	Efluente de reator UASB	Não	12	30	-	7,0	7	90%	28	Doméstico	Garcia <i>et al.</i> , 2017

NA: Não se aplica devido à tipologia de tratamento em questão.

3 OBJETIVOS

3.1 *Objetivo geral*

O objetivo geral da pesquisa foi avaliar o efeito da utilização de meio suporte e diferentes tempos de detenção hidráulica sobre o desempenho de reatores fototróficos como alternativa de pós-tratamento de efluente de reator UASB, com ênfase na oxidação parcial de sulfeto a enxofre elementar.

3.2 *Objetivos específicos*

- Avaliar o efeito da utilização de meio suporte e o do tempo de detenção hidráulica (6h, 4h, e 2h) sobre o desempenho de reatores fototróficos como alternativa de pós-tratamento de efluente de reator UASB, especialmente em relação à oxidação parcial de sulfeto a enxofre elementar;
- Caracterizar a comunidade bacteriana desenvolvida em reatores fototróficos operados sob diferentes tempos de detenção hidráulica (6h, 4h, e 2h) e condições de presença/ausência de meio suporte;
- Avaliar a influência de condições operacionais no desempenho de um reator aeróbio de oxidação de sulfeto e aplicabilidade de sistemas de oxidação de sulfeto fototrófico e aeróbio.

4 MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia desta pesquisa foi dividida em duas principais vertentes em função dos objetivos relacionados: avaliação do desempenho de reatores fototróficos visando a oxidação biológica de sulfeto em condições de baixas cargas sob diferentes condições operacionais e avaliação da influência de condições operacionais no desempenho de um reator biológico de oxidação de sulfeto sob condições de alta carga.

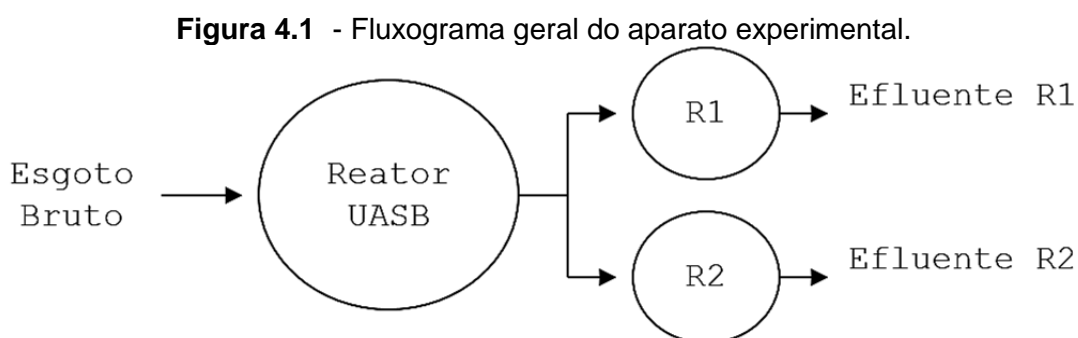
4.1 *Reatores fototróficos sob condições de baixa carga de sulfeto aplicada*

4.1.1 Área de estudo

O aparato experimental encontra-se instalado no Centro de Pesquisa e Treinamento em Saneamento (CePTS) UFMG/COPASA, localizado na Estação de Tratamento de Esgoto do Arrudas, Belo Horizonte/MG, Brasil. Após passar pela unidade de tratamento preliminar da ETE Arrudas, composta por grade grossa manual, grade fina mecanizada e desarenador, uma alíquota do esgoto sanitário é direcionada às instalações situadas no CePTS.

4.1.2 Aparato experimental

A linha de tratamento estudada nesta etapa da pesquisa constituiu-se por um reator UASB e dois biorreatores fototróficos, conforme ilustrado no fluxograma da Figura 4.1.



A Tabela 4.1 apresenta a composição do esgoto bruto afluente ao CePTS durante o início do monitoramento dos reatores UASB e fototróficos.

Tabela 4.1 - Caracterização do esgoto bruto afluente ao reator UASB.

Parâmetros	Média	Mediana	Desvio Padrão	Máximo	Mínimo
pH ¹	7,5	7,5	0,2	8,0	7,2
DQO Total (mgDQO _{total} .L ⁻¹) ¹	542,9	515,7	181,5	895,7	309,0
Sulfeto (mgS ²⁻ .L ⁻¹) ²	0,6	0,5	0,5	1,8	0,0
Sulfato (mgSO ₄ ²⁻ .L ⁻¹) ²	32,3	32,0	5,3	46,5	24,5

Resultados obtidos a partir de (1) 13 dados e (2) 14 dados. Fonte: CASTRO, 2017.

As principais características dimensionais e construtivas relativas ao reator UASB são apresentadas na Tabela 4.2. Ao longo do período monitorado, o reator UASB foi operado com TDH médio de 6 horas. A linha de tratamento estudada é ilustrada na Figura 4.2, com destaque para a saída do reator UASB e entrada dos biorreatores.

Figura 4.2 - Reator UASB em escala piloto.



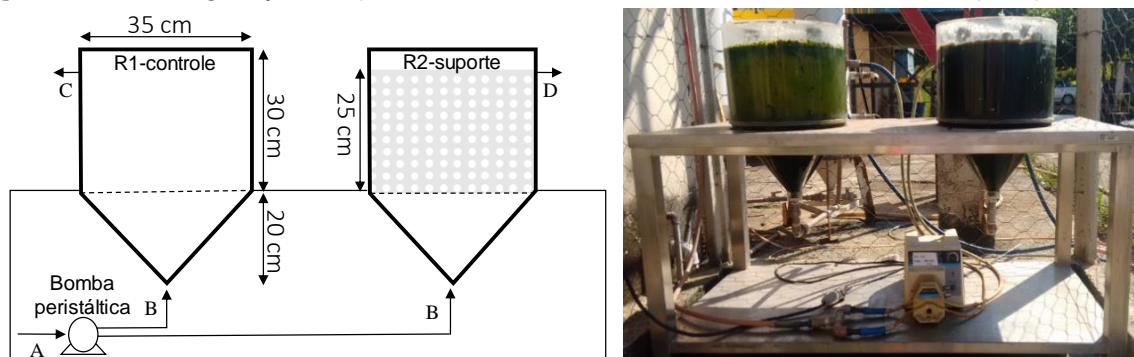
Tabela 4.2 - Principais características do reator UASB.

Reator UASB	
Diâmetro (m)	0,3
Altura útil (m)	4,0
Volume (L)	340
Material	Corpo do reator - Polietileno Separador trifásico - Fibra de vidro

As principais características construtivas e dimensionais dos biorreatores utilizados na pesquisa são apresentadas na Figura 4.3. Os reatores fototróficos são idênticos, diferindo apenas em relação à ausência (R1-controle) ou presença (R2-suporte) de meio suporte. Possuem volume útil total igual a 30,4 L, sendo 6,4 L na parte cônica, inferior, e 24,0 L na parte cilíndrica,

superior. Os reatores foram confeccionados com material transparente (acrílico) devido ao requisito de luminosidade necessário para ocorrência de reações fototróficas e vedados com silicone, a fim de favorecer condições anaeróbias.

Figura 4.3 - Configuração esquemática e vista dos biorreatores utilizados na pesquisa.

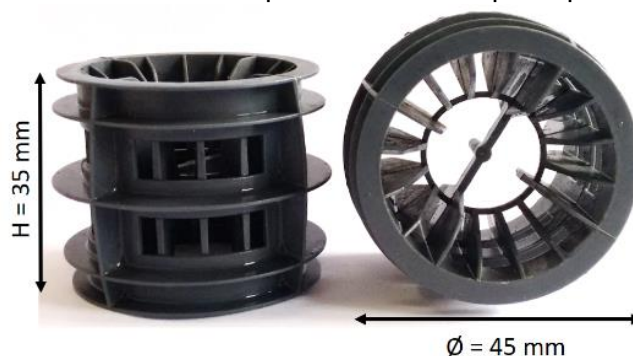


Legenda

- A - Efluente do reator UASB
- B - Afluente aos biorreatores
- C - Efluente do reator controle (R1-controle)
- D - Efluente do reator com meio suporte (R2-suporte)

O R2-suporte possui em seu interior um cesto confeccionado em aço inox, com a finalidade de reter 230 anéis de polipropileno (\varnothing 45 mm, H= 35 mm, 86 m²/m³ de área superficial – Bio Proj Tecnologia Ambiental Ltda), conforme ilustrado na Figura 4.4. A adoção de meio suporte visa propiciar a maior retenção celular de microrganismos presentes no efluente do reator UASB.

Figura 4.4 - Vista lateral e superior do meio suporte presente no R1.



4.1.3 Partida do sistema e fases operacionais

O estudo foi desenvolvido em três fases operacionais, de acordo com os tempos de detenção hidráulica avaliados: 6, 4 e 2 horas. A escolha do TDH para cada fase visou dar continuidade a pesquisa anterior realizada com os mesmos reatores, porém sob TDH superiores (24, 12 e 6 horas). Dessa forma, buscou-se avaliar o desempenho dos reatores operando sob condições de TDH reduzidos, em especial sob TDH de 2 horas (próximo ao TDH na zona de decantação de

reatores UASB), de modo a verificar a viabilidade de inserção futura do meio suporte na zona de decantação de reatores UASB. Os tempos de detenção hidráulica foram calculados a partir do volume dos reatores, desconsiderando a porosidade do meio suporte, 93%. Sendo assim, o R2-suporte foi operado sob condições de TDH ligeiramente inferiores às condições presentes no R1-controle. As três fases do estudo, bem como suas principais características são apresentadas na Tabela 4.3. Os reatores não foram inoculados e dessa forma a biomassa presente no efluente do reator UASB foi retida naturalmente ao longo do experimento. A duração da primeira fase foi superior às subseqüentes devido às dificuldades encontradas no que diz respeito ao período inicial do monitoramento e estabelecimento de metodologias adequadas. Após dois meses de início da primeira fase ocorreram ainda problemas técnicos que ocasionaram o esvaziamento dos reatores. Sendo assim, a fase 1 foi reiniciada e os balanços de massa das três fases estudadas foram normalizados para um mês de monitoramento.

Tabela 4.3 - Fases operacionais e características dos biorreatores fototróficos.

Fase Operacional	Tempo de duração	TDH (h)	Vazão (L.d⁻¹)	Meio Suporte (R1)	Meio suporte (R2)
Fase 1	3 meses	6	120	Sem meio suporte	Com meio suporte*
Fase 2	2 meses	4	180	Sem meio suporte	Com meio suporte*
Fase 3	2 meses	2	360	Sem meio suporte	Com meio suporte*

*Meio suporte constituído por 230 anéis plásticos

A partida dos reatores em cada fase foi realizada adotando-se TDH de 8 horas com o objetivo de propiciar a maior retenção de biomassa durante o período de aclimação dos biorreatores. Inicialmente, adotou-se uma duração maior para o período de aclimação na fase 1 (90 dias) Após observar a evolução da retenção de biomassa na fase 1, optou-se por reduzir a fase de aclimação para 7 dias.

Ao término de cada fase, os reatores foram esvaziados buscando-se determinar o balanço de massa das espécies de enxofre. A opção de esvaziar os reatores e trocar o meio suporte por anéis plásticos novos foi adotada a fim de se obter maior representatividade do balanço de massa e o real efeito da presença de meio suporte, uma vez que a utilização de anéis plásticos previamente utilizados na fase anterior diminuiria a retenção de biomassa aderida.

4.1.4 Amostragem e monitoramento

Amostragem da fase líquida

Durante o período operacional foram coletadas amostras simples duas vezes por semana. O efluente do reator UASB era coletado diretamente da parte superior do reator, a partir da interrupção da alimentação dos reatores fototróficos para realização da coleta. O efluente dos biorreatores fototróficos era coletado a partir da saída de cada reator. A amostra relativa à análise de sulfeto era coletada separadamente, segundo recomendações estabelecidas no *Standard Methods* (APHA, 2012), evitando-se turbulência, formação de bolhas e desprendimento do sulfeto presente da fase líquida.

Amostragem da fase sólida

O lodo, a biomassa e a espuma dos reatores fototróficos foram coletados ao final de cada fase para realização das análises microbiológicas e físico-químicas. A fração acumulada na parte cônica dos reatores, relativa ao lodo, foi coletada a partir do dispositivo de descarte localizado na parte inferior dos reatores. Considerou-se a espuma acumulada na parte superior do R1-controle e a biomassa retida nos anéis plásticos como fração relativa à biomassa dos reatores fototróficos. No caso do R2-suporte, a biomassa aderida nos anéis foi coletada a partir do biofilme desprendido com auxílio de espátula, em anéis situados em diferentes alturas do reator, de modo a obter uma amostra de biomassa representativa. Ao término de cada fase realizava-se a coleta e medição do volume acumulado de lodo e espuma nos reatores fototróficos.

4.1.5 Parâmetros físico-químicos monitorados

Foram monitorados, em campo, com auxílio de sonda multiparamétrica (modelo HACH HQ40D), os seguintes parâmetros: pH, temperatura, potencial redox (ORP) e oxigênio dissolvido (OD). Determinou-se o ORP 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.

As metodologias de análise, frequência e ponto de amostragem dos parâmetros físico-químicos sulfeto dissolvido (S^{2-}), sulfato (SO_4^{2-}), enxofre elementar (S^0), sólidos suspensos voláteis (SSV) e totais (SST), demanda química de oxigênio (DQO) solúvel e total, nitrogênio amoniacal (NH_4^+-N), nitrito ($NO_2^- -N$) e nitrato ($NO_3^- -N$), encontram-se sintetizadas na Tabela 4.4. Visando confirmar a ocorrência do enxofre elementar, realizou-se análise química

elementar semiquantitativa do precipitado branco efluente do R2-suporte em espectrômetro de fluorescência de raios-X (FRX) sequencial PHILIPS (PANALYTICAL) modelo PW-2400. A análise química elementar foi realizada no Laboratório de caracterização de minérios e materiais do Departamento de Engenharia de Minas da UFMG.

Tabela 4.4 - Parâmetros físico-químicos monitorados: metodologias de análise, frequências e pontos de amostragem.

Parâmetro	Método	Amostragem	Frequência	Referência
S ²⁻ dissolvido	Colorimétrico	Afluente e efluente	2x por semana	Plas <i>et al.</i> , 1992
SO ₄ ²⁻	Turbidimétrico	Afluente e efluente	2x por semana	APHA <i>et al.</i> , 2012
S ⁰	Cromatografia líquida	Afluente, efluente, Lodo e biomassa	1x por semana 1 x por fase	Henshaw <i>et al.</i> , 1998; Lauren; Watikson, 1985
SST e SSV	Gravimétrico	Afluente e efluente	1x por semana	APHA <i>et al.</i> , 2012
ST	Gravimétrico	Lodo e biomassa	1x por fase	APHA <i>et al.</i> , 2012
DQO solúvel e total	Colorimétrico	Afluente e efluente	2x por semana	APHA <i>et al.</i> , 2012
NH ₄ ⁺ -N	Colorimétrico	Afluente e efluente	2x por semana	APHA <i>et al.</i> , 2012
NO ₂ ⁻ -N	Colorimétrico	Afluente e efluente	2x por semana	APHA <i>et al.</i> , 2012
NO ₃ ⁻ -N	Colorimétrico	Afluente e efluente	2x por semana	Kit Nitrover® 5 nitrate reagent Hach

4.1.6 Análises microbiológicas

A diversidade microbiana presente na biomassa e lodo dos reatores foi determinada a partir da realização da extração do DNA presente nas amostras, seguida pela técnica PCR-DGGE. As amostras foram coletadas ao fim de cada fase de modo a possibilitar a comparação da diversidade bacteriana nas três fases do estudo e a determinação do TDH em que foi observada maior diversidade de microbiana

4.1.7 Análises estatísticas

As análises estatísticas realizadas a partir dos dados gerados no presente trabalho encontram-se sumarizadas na Tabela 4.5. As comparações entre o efluente dos biorreatores fototróficos e o efluente do reator UASB foram realizadas a partir de metodologias de amostras independentes, ao passo que as amostras dos dois biorreatores foram avaliadas como dependentes, uma vez que o único parâmetro de diferenciação é a ausência/presença de meio suporte. Os testes estatísticos avaliando grupos de amostras dependentes buscam avaliar o efeito da presença de

meio suporte. Segundo Callegari-Jaques (2003), a avaliação de amostras dependentes ou pareadas torna o teste estatístico mais sensível a pequenas diferenças.

Tabela 4.5 - Síntese das análises estatísticas realizadas.

Descrição	Metodologia	Software
Estatística descritiva	Gráficos de séries temporais e de dispersão e gráficos de Box e Whisker	<i>Excel 2016</i>
Testes normalidade	Teste de <i>Shapiro Wilk</i>	<i>Statistica 10.0</i>
Testes de hipóteses	Paramétrico	Independentes: ANOVA; Teste de <i>Tukey</i> Dependentes: Teste t de <i>Student</i>
	Não paramétrico	Independentes: Teste de <i>Kruskal-Wallis</i> Dependentes: Teste T de <i>Wilcoxon</i>

*Os testes de hipóteses foram realizados para um nível de confiança de 95% ($\alpha = 0,05$)

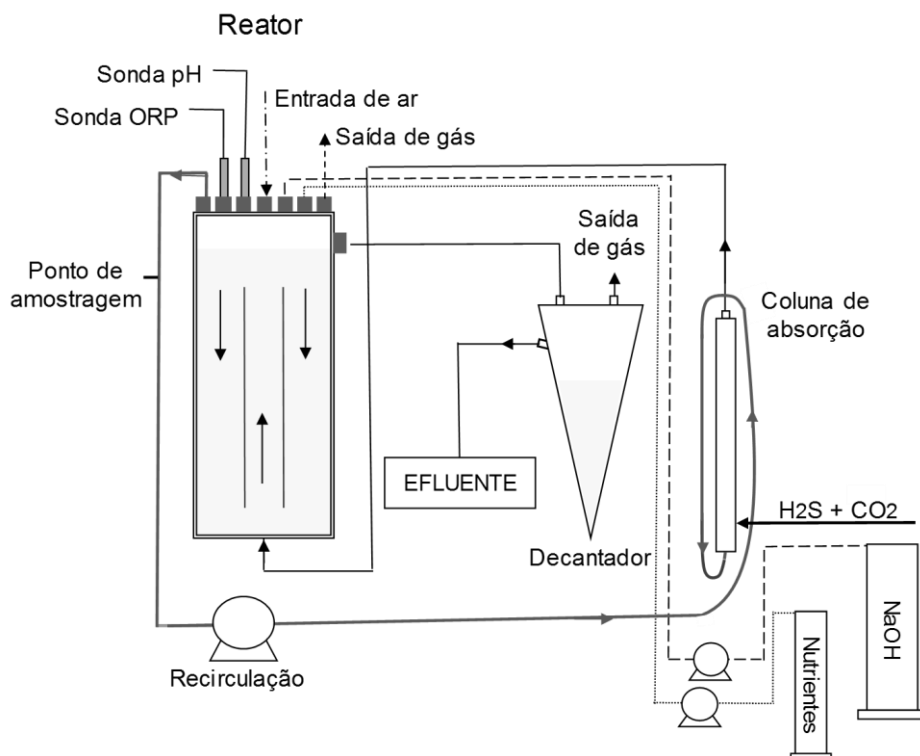
O teste de normalidade de *Shapiro-Wilk* foi realizado a fim de se determinar o teste de hipóteses a ser adotado – paramétrico ou não paramétrico. Uma vez que os dados não aderiram à distribuição normal, optou-se por utilizar os testes de hipóteses de *Kruskal-Wallis* (amostras independentes) e teste T de *Wilcoxon* (amostras dependentes).

A estatística descritiva dos dados gerados no presente trabalho foi calculada a partir da utilização do *Excel 2016*. Os gráficos *Box e Whisker* e testes estatísticos foram realizados a partir da utilização do *software Statistica 10*. Os testes estatísticos permitem a comparação entre medidas de tendência central dos grupos amostrais definidos nesse estudo, dando suporte à discussão dos resultados obtidos.

4.2 Reator biológico de oxidação de sulfeto sob condições de alta carga de sulfeto aplicada – Reator THIOPAQ®

O aparato experimental desta etapa da pesquisa consistiu em uma coluna de absorção de gás seguida de um reator biológico de 3,5 L e um decantador de 1 L, conforme exibido na Figura 4.5. Os experimentos foram realizados no *Water Application Centre (WAC)* em Leeuwarden, Países Baixos. O reator do tipo “*air lift*” operou com uma linha de recirculação com fluxo de 8 L.h⁻¹ ajustado por meio de bomba peristáltica. Parâmetros como pH, ORP e temperatura foram monitorados no interior do reator a partir de sensores (Endress+Hauser CPS11D, CPS12D). A temperatura do reator foi mantida entre 36 e 37 °C.

Figura 4.5 - Representação esquemática do sistema THIOPAQ® avaliado em escala laboratorial.



A fim de avaliar a influência de condições operacionais na estabilidade e desempenho do reator, as seguintes análises foram realizadas: nitrogênio (total e dissolvido), DQO (total e solúvel), SO_4^{2-} e sólidos sedimentáveis (Ssed). Uma vez que os aspectos metodológicos apresentados estão relacionados exclusivamente ao reator THIOPAQ®, os mesmos serão descritos no capítulo específico (Cap. 8) em que o sistema é abordado.

5 DESEMPENHO DE REATORES FOTOTRÓFICOS APLICADOS AO PÓS-TRATAMENTO DE EFLUENTE DE REATORES UASB TRATANDO ESGOTO DOMÉSTICO COM ÊNFASE NA OXIDAÇÃO BIOLÓGICA DE SULFETO

5.1 Introdução

Sistemas anaeróbios possuem grande aplicabilidade para o tratamento de efluente doméstico em países tropicais, com destaque para o reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo, reator UASB. Tal tecnologia possui vantagens e limitações relacionadas ao processo anaeróbio, sendo que dentre os entraves inerentes à tecnologia tem-se possível emissão de maus odores e necessidade de implementação de uma etapa de pós-tratamento a fim de enquadrar o efluente em padrões estabelecidos pela legislação ambiental e alcançar maiores eficiências (VAN LIER *et al.*, 2001; CHERNICHARO *et al.*, 2015).

Devido ao risco à saúde (organismos patogênicos) e ao meio ambiente (DQO residual e nutrientes) inerente à disposição de efluentes anaeróbios, o pós-tratamento objetiva o polimento do mesmo. Esta etapa visa a melhoria da qualidade do efluente final no que diz respeito à qualidade microbiológica, à remoção da matéria orgânica remanescente e à recuperação de compostos de interesse (nitrogênio, fósforo e enxofre), de modo a reduzir o impacto gerado a partir do lançamento do efluente em corpos receptores (FORESTI, 2006; CHERNICHARO, 2015).

Os maus odores emitidos pelos reatores UASB advém principalmente da redução do sulfato presente no efluente doméstico, convertido a sulfeto em condições anaeróbias. O controle do sulfeto gerado pode ser realizado a partir de diversos métodos que promovam a inibição da sua formação ou a conversão do composto gerado (GARCIA DE LOMAS *et al.*, 2005; TANG *et al.*, 2009). A oxidação biológica de sulfeto de hidrogênio, realizada por bactérias sulfurosas aeróbias ou anaeróbias, é uma alternativa para controle do sulfeto de hidrogênio presente no efluente de reatores anaeróbios. Embora a eficiência de oxidação biológica de sulfeto realizada por bactérias quimiolitotróficas e fototróficas seja similar, os requisitos nutricionais e energéticos reduzidos tornam a oxidação biológica anaeróbia, realizada por bactérias fototróficas, a via mais atrativa (TANG *et al.*, 2009).

O sulfeto é oxidado biologicamente sob condições anaeróbias a partir da atividade de sulfobactérias verdes e púrpuras, que transferem elétrons de compostos reduzidos de enxofre para compostos de carbono por meio da utilização de luz como fonte de energia. No processo

de fotossíntese anoxigênica a molécula de água é substituída por compostos reduzidos de enxofre, os quais são convertidos a enxofre elementar ou sulfato, a depender das condições ambientais prevalentes (FRIEDRICH *et al.*, 2005; MADIGAN, 2010).

A oxidação parcial do sulfeto promove a formação de enxofre elementar, precipitado de coloração branca ou amarelo-palha (JANSSEN *et al.*, 1999). Sua formação é de especial interesse, uma vez que além de garantir a melhor qualidade do efluente final, se recuperado, pode ser utilizado em diversos setores como agrícola e industrial (VAN-LIER *et al.*, 2001; VANNINI *et al.*, 2008; KLOK *et al.*, 2012; PAQELL, 2016).

A partir da revisão de literatura apresentada no Capítulo 2 (ver item 2.5), observa-se que embora a viabilidade da oxidação biológica de sulfeto de hidrogênio tenha sido demonstrada, ainda são escassas pesquisas relacionadas ao tratamento de efluente anaeróbio real utilizando sistemas operados com baixas cargas aplicadas de sulfeto de hidrogênio, sob condições de reduzidos TDH. Estudo realizado por Garcia *et al.* (2017) avaliou o desempenho e a diversidade microbiana de dois biorreatores fototróficos utilizados para a remoção de sulfeto presente em efluente anaeróbio de reator UASB tratando efluente sanitário real. Ambos reatores apresentaram eficiências médias de remoção de sulfeto da ordem de 90%, demonstrando a possibilidade da adoção de reatores fototróficos de baixo custo para a remoção de sulfeto de hidrogênio presente em efluentes anaeróbios.

Nesse contexto o presente capítulo objetivou complementar estudo realizado por Garcia *et al.* (2017) a partir da avaliação da influência de meio suporte e de três tempos de detenção hidráulica no desempenho dos biorreatores como alternativa de pós-tratamento de efluente de reator UASB, com ênfase na oxidação parcial de sulfeto a enxofre elementar. Buscou-se ainda avaliar as reações presentes no interior dos reatores fototróficos relacionadas a compostos de nitrogênio, uma vez que interações dos ciclos do nitrogênio e enxofre são passíveis de ocorrer (ver item 2.8).

5.2 Material e métodos

Neste item são apresentados exclusivamente aspectos metodológicos adicionais necessários para a realização desta etapa da pesquisa. Informações relacionadas à metodologia geral da pesquisa foram abordadas no capítulo 4.

5.2.1 Aparato experimental e monitoramento

O aparato experimental constituiu-se por um reator UASB ($V = 340\text{ L}$) seguido de dois biorreatores fototróficos com características idênticas ($V = 30\text{ L}$), exceto pela ausência (R1-controle) ou presença de meio suporte (R2-suporte), 230 anéis de polipropileno. Os reatores foram monitorados durante 7 meses, divididos em três etapas em função da variação do tempo de detenção hidráulica dos reatores fototróficos: 6, 4 e 2 horas. O aparato experimental, assim como as características operacionais da pesquisa, encontram-se descritas no item 4.1.

Foram monitorados, em campo, com auxílio de sonda multiparamétrica (modelo HACH HQ40D) os seguintes parâmetros: pH, temperatura, potencial redox (ORP) e oxigênio dissolvido (OD). Determinou-se o potencial redox (ORP) 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. Devido ao limite de detecção dos sensores para quantificação de oxigênio dissolvido ($0,1\text{ mg.L}^{-1}$), o ORP tem sido adotado como alternativa para determinação das características do meio, aeróbias ou anaeróbias (JANSSEN, 1998).

Os sensores foram inseridos nos biorreatores a partir de dois orifícios localizados na parte superior dos mesmos, tendo sido posicionados de modo a realizar a leitura a cerca de 15 cm de profundidade da coluna líquida. Conforme ilustrado na Figura 5.1, a inserção das sondas era realizada evitando-se ao máximo a entrada de ar e conseqüente alteração das condições anaeróbias presentes no meio.

Figura 5.1 - Monitoramento realizado no interior dos reatores fototróficos a partir de sonda multiparamétrica.



As metodologias de análise, frequência e pontos de amostragem dos parâmetros físico-químicos encontram-se sumarizadas na Tabela 5.1. Ademais, buscou-se ainda avaliar a concentração de sulfeto no *headspace* dos reatores por meio de um analisador portátil Landtec® modelo

GEMTM 5000, todavia o elevado tempo necessário para realização da análise ocasionava a diluição do gás presente no *headspace* dos reatores em decorrência da entrada de ar atmosférico. Face a essa deficiência analítica, os resultados obtidos não foram utilizados nos cálculos de distribuição de massa de enxofre nos reatores.

Tabela 5.1 - Parâmetros físico-químicos monitorados: metodologias de análise, frequências e pontos de amostragem.

Parâmetro	Método	Amostragem	Frequência	Referência
S ²⁻ dissolvido	Colorimétrico	Afluente e efluente	2x por semana	Plas <i>et al.</i> , 1992
SO ₄ ²⁻	Turbidimétrico	Afluente e efluente	2x por semana	APHA <i>et al.</i> , 2012
S ⁰	Cromatografia líquida	Afluente, efluente, Lodo e biomassa	1x por semana 1 x por fase	Henshaw <i>et al.</i> , 1998; Lauren e Watikson, 1985
SST e SSV	Gravimétrico	Afluente e efluente	1x por semana	APHA <i>et al.</i> , 2012
ST	Gravimétrico	Lodo e biomassa	1x por fase	APHA <i>et al.</i> , 2012
DQO solúvel e total	Colorimétrico	Afluente e efluente	2x por semana	APHA <i>et al.</i> , 2012
NH ₄ ⁺ -N	Colorimétrico	Afluente e efluente	2x por semana	APHA <i>et al.</i> , 2012
NO ₂ ⁻ -N	Colorimétrico	Afluente e efluente	2x por semana	APHA <i>et al.</i> , 2012
NO ₃ ⁻ -N	Colorimétrico	Afluente e efluente	2x por semana	Kit Nitrover® 5 nitrate reagent Hach

Visando confirmar a formação de enxofre elementar, o efluente do reator R2-suporte foi submetido à sedimentação em cone *Imhoff*, durante 30 minutos. Após remoção do sobrenadante, concentrou-se o precipitado branco a partir de secagem a 40°C, o qual foi encaminhado para realização de análise química elementar semiquantitativa do enxofre, por meio de espectrômetro de fluorescência de raios-X (FRX) sequencial PHILIPS (PANALYTICAL) modelo PW-2400. A análise de FRX foi realizada no Laboratório de caracterização de minérios e materiais do Departamento de Engenharia de Minas da UFMG.

As metodologias das análises adotadas não padronizadas pelo *Standard Methods* são descritas a seguir:

Sulfeto dissolvido

As análises de sulfeto foram realizadas em triplicata pelo método adaptado por Plas *et al.* (1992), de princípio colorimétrico e curva padrão produzida a partir de solução padrão de sulfeto 1000 mgS²⁻.L⁻¹ para amostras com concentrações de sulfeto entre 0,1 e 51 mgS²⁻.L⁻¹.

O sulfeto dissolvido presente na amostra era preservado pela adição prévia, em laboratório, de 10 ml de solução de acetato de zinco 0,01 M em tubos *falcon*. Posteriormente os sólidos presentes na amostra foram removidos por coagulação utilizando-se 200 µL de solução de hidróxido de sódio 6 N e 200 µL de solução de cloreto de alumínio (APHA, 2012). Após 10 minutos de sedimentação eram adicionados 200 µL do sobrenadante ao tubo *falcon* contendo a solução de acetato de zinco. Na amostra relativa ao branco eram adicionados 200 µL de água destilada. Em laboratório, 1 ml da solução de dimetil-p-fenilenodiamina (DMPD) e 70 µL de solução de sulfato férrico amoniacal (PLAS *et al.*, 1992) eram adicionados em cada tubo *falcon*. Após 20 minutos a absorvância era medida por espectrofotômetro da marca HATCH DR 2010 utilizando-se o comprimento de onda de 663 nm. Com os dados de absorvância, a concentração de sulfeto era obtida a partir da curva de calibração gerada por diferentes diluições da solução padrão de sulfeto.

Enxofre elementar

A análise de enxofre elementar presente na fase líquida (efluente dos biorreatores) foi realizada a partir da sua extração das amostras com a adição de 40 ml de amostra em 10 ml de clorofórmio. As amostras eram agitadas durante uma noite (250 rpm) e no dia seguinte eram filtradas (filtros de seringa com 0,45 µm de porosidade) e em seguida iniciava-se a análise cromatográfica. O enxofre foi quantificado por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) utilizando-se como fase móvel solução constituída por metanol e clorofórmio grau HPLC (1:1) e coluna PRP1 de fase reversa (15cm x 4.1mm), conforme adotado por Garcia (2017) e especificado por Lauren e Watkinson (1985) e Henshaw *et al.* (1998).

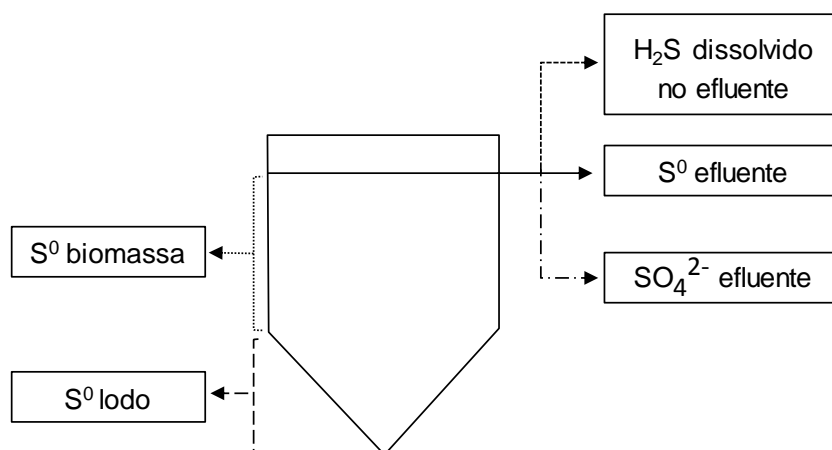
O enxofre elementar presente nas amostras de biofilme, espuma e lodo, era extraído e quantificado por cromatografia após etapa de lise celular. Para isso, 2 mL de cada amostra eram agitadas juntamente com 0,2 g de micropérolas de vidro durante 1 minuto a uma frequência de 4000 rpm. Em seguida o enxofre elementar era extraído das amostras com clorofórmio, assim como realizado para as amostras do efluente.

5.2.2 Distribuição das frações de enxofre

As concentrações das espécies sulfurosas monitoradas foram obtidas a partir dos métodos citados. A distribuição da massa dos compostos de enxofre foi determinada a partir das concentrações juntamente com os volumes das respectivas fases sólida e líquida. As frações de compostos sulfurosos consideradas na distribuição de massa das espécies sulfurosas presentes

nos reatores fototróficos são exemplificadas na Figura 5.2. Para o R2-suporte considerou-se biomassa a parcela retida no cesto inox localizado na parte cilíndrica e para o R1-controle, a espuma retida na parte superior do reator. Já a parcela referente ao lodo, levou em consideração o lodo acumulado na parte cônica dos reatores ao longo de cada fase e coletado a partir do dispositivo de descarte situado na parte inferior dos reatores.

Figura 5.2 - Ilustração das parcelas consideradas no cálculo da distribuição dos compostos sulfurosos nos biorreatores.



O método utilizado para o cálculo do massa de cada espécie de enxofre monitorada é apresentado na Tabela 5.2. O peso seco da biomassa do R2-suporte foi determinado a partir da diferença de peso entre o cesto inox preenchido pelos anéis secos e o cesto inox preenchido com os anéis limpos, pesados ao início de cada fase. O peso seco do cesto inox preenchido com anéis com biomassa aderida foi determinado após secagem em estufa a 105°C. O cesto contendo os anéis foi retirado da estufa e pesado sucessivamente até não haver alteração de peso, indicando assim a ausência de umidade.

Tabela 5.2 - Método utilizado para cálculo da massa de compostos sulfurosos produzida ao longo de cada fase monitorada.

Fase	Espécie de S	Cálculo de massa de enxofre realizado
Líquida	S^{2-} , SO_4^{2-} , S^0	$Massa S = Volume líquido \times Concentração composto S$
Escuma		$Massa S^0 = Volume de espuma \times Concentração S^0$
Sólida	S^0	$Massa S^0 = Volume de lodo \times Concentração S^0$
Biomassa		$Massa S^0 = \frac{Peso seco biomassa \times Concentração S^0}{Concentração de sólidos}$

5.3 Resultados e Discussão

5.3.1 Relação entre os parâmetros físicos e químicos monitorados no interior dos reatores

Devido à influência dos parâmetros pH, ORP e OD no desenvolvimento da comunidade microbiana e nas espécies predominantes de compostos sulfurosos, os mesmos foram monitorados no interior dos biorreatores e os dados obtidos são apresentados na Tabela 5.3.

No período monitorado os valores medianos de pH de ambos biorreatores estiveram entre 6,8 e 7,1, com valores próximos entre os reatores ao longo das fases monitoradas. No início da operação o pH do esgoto bruto e no decantador do reator UASB foram monitorados, tendo sido obtidos valores medianos de 7,5 e 6,9, respectivamente. Nesse contexto, o pH no interior dos biorreatores permaneceu próximo ao pH do seu afluente. Estudos prévios (REYES-AVILA *et al.*, 2004; KRISHNAKUMAR *et al.*, 2005; LOHWACHARIN; ANNACHHATRE, 2010; VANNINI *et al.*, 2008 FAJARDO *et al.*, 2012) reportaram como condição operacional favorável à ocorrência de bactérias oxidadoras de sulfeto valores de pH entre 7 e 8. A faixa de pH é ainda relevante para determinação da distribuição das formas de sulfeto presente no meio. Em valores de pH próximos a 7,0 cerca de 50% do sulfeto dissolvido encontra-se na sua forma não dissociada (H_2S) e 50% dissociado (HS^-) (CHERNICHARO, 2016). Sendo assim, os valores obtidos para ambos reatores nas fases de estudo são próximos à neutralidade e se enquadram em valores adotados por estudos anteriores e propícios à ocorrência de bactérias oxidadoras de sulfeto.

Tabela 5.3 - Resultados dos parâmetros monitorados no interior dos biorreatores fototróficos.

TDH	Reator	pH	OD (mg.L ⁻¹)	Temp (°C)	Eh (mV)
6 horas	R1-controle	7,1 (0,1)	0,4 (0,1)	25,4 (2,4)	-67,5 (108,6)
	R2- suporte	7,0 (0,1)	0,3 (0,1)	24,9 (2,3)	-104,8 (23,6)
4 horas	R1-controle	6,9 (0,1)	0,3 (0,1)	21,7 (1,5)	-102,3 (9,5)
	R2- suporte	6,9 (0,2)	0,3 (0,1)	21,4 (1,5)	-104,7 (6,4)
2 horas	R1-controle	6,8 (0,2)	0,3 (0,1)	26,6 (3,1)	-101,1 (23,6)
	R2- suporte	6,8 (0,1)	0,2 (0,1)	24,8 (2,5)	-109,6 (18,3)

Resultados obtidos a partir da mediana relativa a 15 amostragens *in loco*. Em parênteses: Desvio padrão

As temperaturas foram ligeiramente mais elevadas nas fases 1 e 3, com valores medianos próximos a 25°C. As temperaturas na fase 2 foram mais baixas tanto para o R1-controle como

para o R2-suporte, entre 21°C e 22°C, valores condizentes com a estação do ano em que a fase ocorreu, inverno.

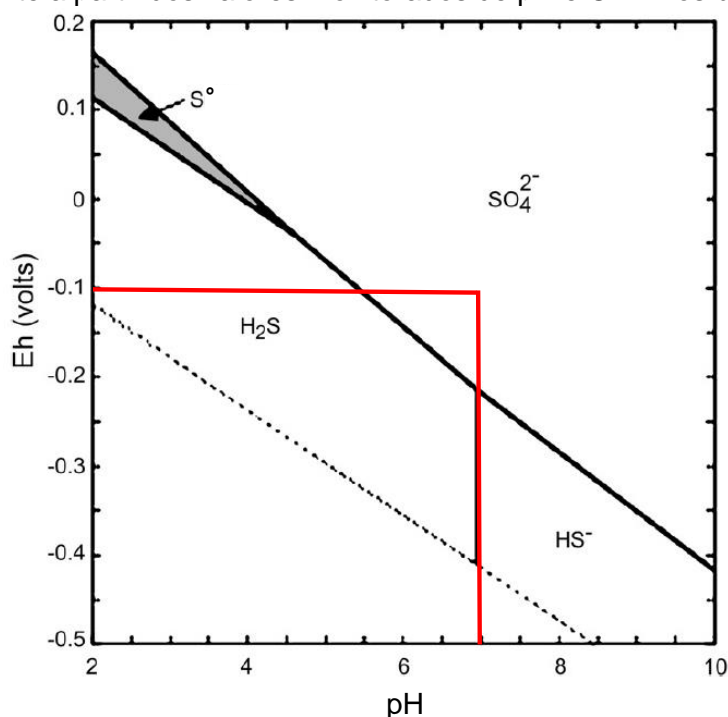
Ao longo das fases avaliadas, os reatores fototróficos apresentaram valores medianos de ORP entre -67,5 mV e -109,6 mV e concentrações medianas de oxigênio dissolvido entre 0,2 mg.L⁻¹ e 0,4 mg.L⁻¹. Devido às baixas concentrações de oxigênio dissolvido observadas em ambientes anaeróbios e ao limite de detecção de sensores de oxigênio, 0,1 mg.L⁻¹, a acurácia deste método pode ser comprometida, sendo possível adotar o potencial redox como alternativa de medição indireta de oxigênio dissolvido (JANSSEN *et al.*, 1999).

Uma vez que valores negativos de ORP estão associados a ambientes anaeróbios (MADIGAN, 2010), é possível afirmar que, apesar da baixa sensibilidade inerente aos sensores de oxigênio dissolvido, as concentrações monitoradas são condizentes com os valores de ORP observados nos reatores. Tais valores corroboram a hipótese inicial de condições anaeróbias prevalentes nos biorreatores fototróficos, favoráveis à ocorrência de reações biológicas principalmente no que diz respeito à oxidação de sulfeto de hidrogênio via fotossíntese anoxigênica. Embora condições favoráveis de ORP sejam observadas no meio, a formação de sulfato é inevitável, ainda que em pequenas proporções (JANSSEN *et al.*, 1999).

A fim de avaliar se o enxofre elementar produzido nos reatores estaria associado apenas à via biológica de oxidação, determinaram-se inicialmente quais espécies de enxofre seriam favorecidas de acordo com as condições presentes no meio. O diagrama Eh-pH, diagrama de *Pourbaix*, define as fases de equilíbrio estáveis em um sistema eletroquímico em função do pH e do potencial redox da solução a 25°C e 1 bar (RICKARD; LUTHER, 2007).

Ao analisar o diagrama de *Pourbaix* para elementos de enxofre, exemplificado na Figura 5.3, juntamente com os valores obtidos para os parâmetros pH e ORP, nota-se que as condições presentes no interior dos biorreatores, em destaque no diagrama, favoreceram a reação química de formação de sulfato. Partindo do pressuposto que condições químicas não proporcionariam a formação de enxofre elementar, valores obtidos para o mesmo podem ser atribuídos à via biológica de oxidação.

Figura 5.3 - Diagrama de *Pourbaix* para espécies estáveis de enxofre em solução aquosa (25°C, pressão total 1 bar) com destaque em vermelho para a forma de enxofre favorecida quimicamente a partir dos valores monitorados de pH e ORP nos biorreatores.



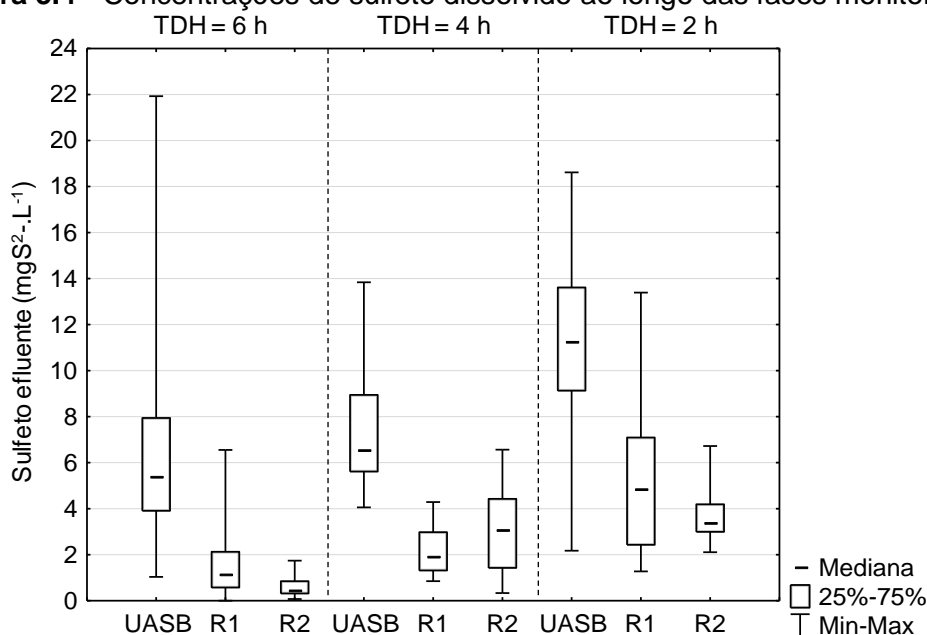
Fonte: Adaptado de Rickard e Luther (2007).

5.3.2 Monitoramento das espécies sulfurosas presentes no efluente dos reatores

Ao longo das fases 1, 2 e 3, o sulfeto dissolvido presente no efluente do reator UASB apresentou concentrações medianas de $5,4 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, $6,6 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ e $11,3 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, respectivamente (Figura 5.4). Os valores de sulfeto dissolvido observados estiveram próximos aos obtidos por Souza *et al.* (2012), $7 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ a $11 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, e foram mais elevados que valores relatados por Garcia *et al.* (2017), $2 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ a $3 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, todos obtidos em reatores anaeróbios tratando esgoto doméstico oriundo da mesma região de contribuição.

Ao comparar as medianas das concentrações de sulfeto dissolvido no afluente e no efluente dos biorreatores, ilustradas na Figura 5.3.1, nota-se que a adoção da etapa de pós-tratamento promoveu a redução da concentração de sulfeto dissolvido presente no efluente final, com concentrações medianas da ordem de $1,2 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ - fase 1 e $3,1 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ - fase 2. A concentração mediana de sulfeto afluente aos biorreatores durante a fase 3, $11,3 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, se mostrou superior às concentrações medianas afluentes aos biorreatores nas fases 1 e 2 ($5,4 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ e $6,6 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$), de modo que a comparação das concentrações de sulfeto dissolvido efluente não se justifica mas sim das eficiências de oxidação, apresentadas na Figura 5.5.

Figura 5.4 - Concentrações de sulfeto dissolvido ao longo das fases monitoradas.

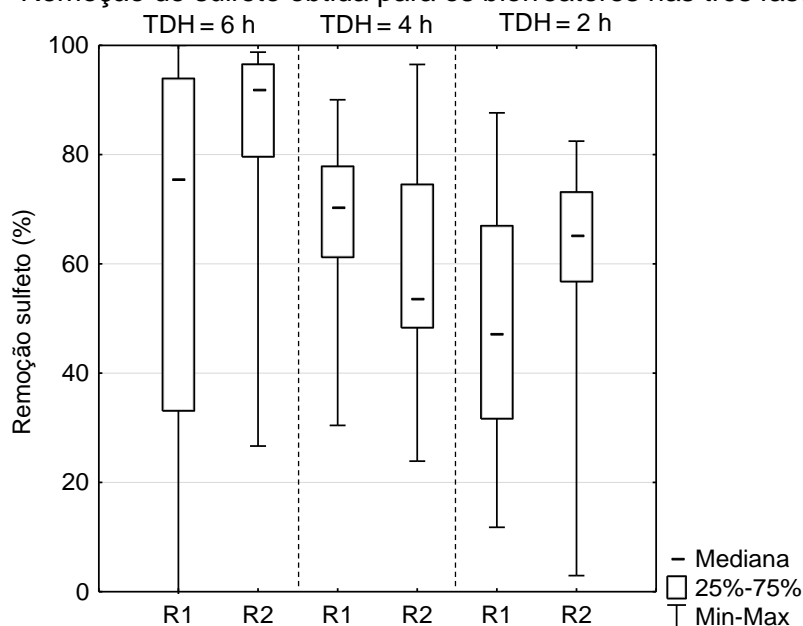


*Resultados obtidos a partir de 16 amostras.

No que diz respeito à remoção de sulfeto, das três fases estudadas, a maior eficiência foi observada para o TDH mais elevado, 6 horas. Na primeira fase do estudo, as eficiências medianas de oxidação de sulfeto dissolvido foram 75% e 92% para os reatores R1-controle e R2-suporte, respectivamente. Garcia *et al.* (2017) ao avaliar biorreatores fototróficos com anéis de polipropileno sob condições similares, obtiveram eficiências medianas de remoção de sulfeto entre 50% e 60%. A menor eficiência reportada por Garcia *et al.* (2017) pode estar relacionada à concentração mediana de sulfeto afluente, $2 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, 63% inferior à determinada no presente estudo, $5,4 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$.

Na fase 2, ao alterar o TDH de 6 para 4 horas, notou-se a redução das eficiências de remoção em ambos biorreatores. No entanto, ao contrário do observado na primeira fase, a maior eficiência mediana de oxidação de sulfeto durante a segunda fase foi atribuída ao R1-controle, 70%, equivalente a concentração mediana efluente de sulfeto de $2,0 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$. No mesmo período cerca de 54% do sulfeto dissolvido afluente foi oxidado, com concentração mediana efluente de $3,1 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$.

Figura 5.5 - Remoção de sulfeto obtida para os biorreatores nas três fases avaliadas.



*Resultados obtidos a partir de 16 amostras.

Sob condições do menor TDH testado, 2 horas, o desempenho dos biorreatores no que se refere à remoção de sulfeto permaneceu similar ao da fase inicial, com maior eficiência de remoção associada ao R2-suporte, 92% (TDH = 6 h) e 70% (TDH = 2 h). Além da maior carga de sulfeto aplicada associada à redução do TDH, o efluente do reator UASB apresentou concentrações mais elevadas de sulfeto. Sendo assim, supõe-se que o ganho de eficiência relativo ao R2-suporte sob condição de menor TDH esteja associado à maior carga de sulfeto afluyente aos biorreatores. Inicialmente assumiu-se que a redução do TDH implicaria em maiores cargas aplicadas de sulfeto, no entanto a adoção de efluente real impossibilitou concentrações inalteradas de sulfeto afluyente ao longo do período monitorado. A concentração mediana de sulfeto afluyente relativa à terceira fase se mostrou cerca de 40% a 50% superior às medianas das fases que a antecederam. As cargas medianas de sulfeto nos biorreatores variaram ao longo do monitoramento, sendo a menor carga aplicada observada na fase inicial, $22 \text{ gS.m}^{-3}\text{d}^{-1}$. As cargas aplicadas nas fases subsequentes foram respectivamente $40 \text{ gS.m}^{-3}\text{d}^{-1}$ e $135 \text{ gS.m}^{-3}\text{d}^{-1}$.

Estudo realizado por Silva (2005) avaliou a oxidação de sulfeto em um biorreator anaeróbio de bateladas sequenciais sob TDH de 24 horas com carga aplicada de sulfeto de $134 \text{ gS.m}^{-3}\text{d}^{-1}$ e 88% de eficiência de remoção. Para carga similar de sulfeto aplicada, $135 \text{ gS.m}^{-3}\text{d}^{-1}$, o R2-suporte apresentou menor eficiência de remoção de sulfeto dissolvido, 70%. Apesar de carga aplicada similar, a eficiência citada refere-se a 2 horas de TDH, valor expressivamente inferior ao adotado por Silva (2005), 24 horas. Além disso, a concentração de sulfeto dissolvido efluente obtida adotando-se o biorreator de bateladas sequenciais como tecnologia de remoção de sulfeto

foi cerca de $16 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, enquanto o presente estudo apresentou concentrações inferiores, $3 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, sugerindo portanto o uso de reatores fototróficos como tecnologia promissora para remoção de sulfeto de efluentes anaeróbios.

A análise conjunta das Figuras 5.4 e 5.5 permite observar que ao longo de duas das três fases monitoradas, o R2-suporte apresentou maior eficiência de remoção de sulfeto dissolvido e consequente menor concentração efluente final se comparado aos resultados inerentes ao R1-controle. O teste estatístico de *Kruskal-Wallis* para amostras independentes, a nível de significância de 5%, comprovou diferença significativa entre as concentrações medianas de sulfeto dissolvido presente no efluente dos biorreatores e do reator UASB, com exceção da concentração efluente do R1-controle para o TDH de 2 horas, cujo valor não diferiu significativamente da concentração mediana efluente do reator UASB.

Ao contrário do que se observou para os TDH de 6 horas e 2 horas, a maior eficiência de oxidação de sulfeto para o TDH de 4 horas esteve associada ao R1-controle, indicando que a presença de meio suporte não favoreceu maior oxidação de sulfeto nesse período. Uma vez que não foram observadas condições ambientais idênticas no interior dos reatores fototróficos (como exemplo, concentração de oxigênio dissolvido), é possível que a maior eficiência de oxidação de sulfeto observada para o R1-controle esteja associada à ocorrência de condições favoráveis à oxidação do composto no interior do reator.

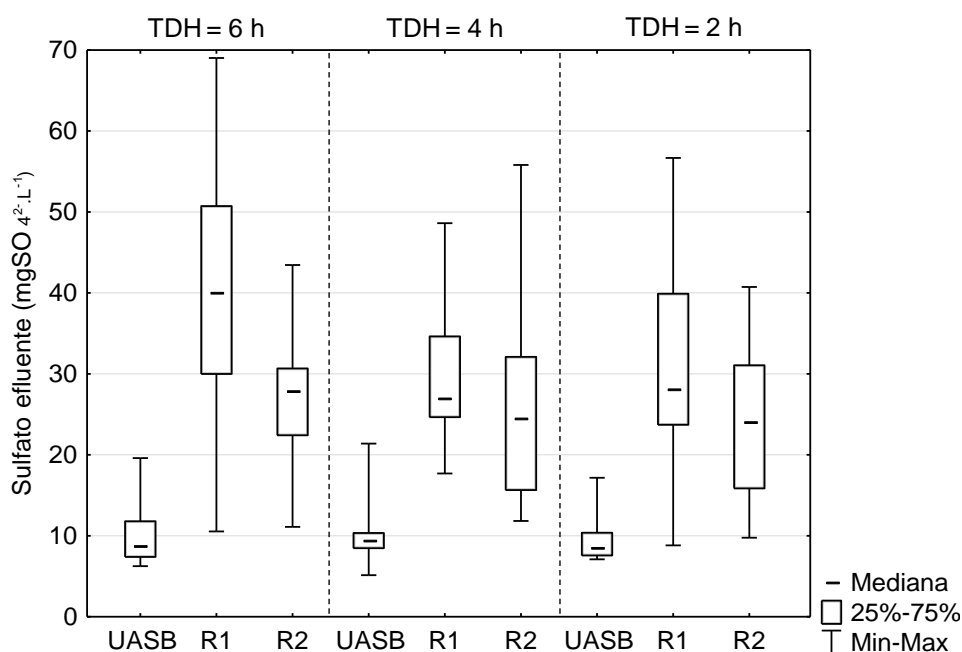
O efeito do meio suporte foi avaliado a partir da realização do teste T de *Wilcoxon* para amostras pareadas, o qual evidenciou que as concentrações de sulfeto dissolvido efluente dos biorreatores são significativamente diferentes entre si. Nesse sentido, é possível considerar que nas fases 1 e 3, nas quais o R2-suporte apresentou concentrações de sulfeto inferiores ao R1-controle, a presença do meio suporte propiciou a melhor qualidade do efluente no que se refere à concentração de sulfeto dissolvido efluente.

Ao longo das três fases monitoradas, as concentrações de sulfeto dissolvido efluente dos biorreatores foram $1,2 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, $2,0 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ e $4,9 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ para o R1-controle e $0,5 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, $3,1 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ e $3,4 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, para o R2-suporte. No que diz respeito a padrões nacionais de lançamento de efluentes em cursos d'água, a legislação nacional CONAMA 430/2011 e a legislação estadual de Minas Gerais, COPAM/CERH-MG 01/2008, estabelecem que os efluentes devem apresentar concentrações de sulfeto dissolvido inferiores a $1 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$. Dentre

os resultados medianos reportados para as três fases avaliadas, apenas o efluente do R2-suporte na fase 1 ($0,5 \text{ mgS}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$) se enquadrou no limite estabelecido.

Ao analisar a Figura 5.6, conforme esperado, é possível observar que à medida que a concentração mediana de sulfeto dissolvido reduz ao longo da linha de tratamento estudada (Figura 5.4), o inverso ocorre para o parâmetro sulfato, ratificando a ocorrência de condições favoráveis à oxidação biológica de sulfeto dissolvido. Uma vez que as concentrações medianas efluentes do reator UASB variaram entre $8,6 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ e $9,6 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, concentrações superiores de sulfato efluente dos biorreatores indicam a ocorrência de condições favoráveis à oxidação biológica completa de sulfeto a sulfato.

Figura 5.6 - Concentrações de sulfato efluente dos reatores UASB e fototróficos durante as fases avaliadas.



*Resultados obtidos a partir de 16 amostras.

Nas três fases estudadas foram observadas concentrações de sulfato mais elevadas no efluente do R1-controle, indicando que a ausência de meio suporte favoreceu a oxidação completa de sulfeto a sulfato, com concentrações medianas de $40,2 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, $27,0 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ e $28,1 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$. Nas fases 1 e 3 do estudo, embora o efluente do R2-suporte tenha apresentado maior oxidação de sulfeto, o mesmo não ocorreu em relação à formação de sulfato, com concentrações medianas de $28,0 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ e $24,1 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, possivelmente devido à maior formação de enxofre elementar proporcionada pela presença de meio suporte.

Nas três fases avaliadas, as concentrações de sulfato efluente dos biorreatores foram significativamente superiores às concentrações efluentes do reator UASB, a partir da realização do teste de *Kruskal-Wallis* para amostras independentes com 5% de nível de significância. As concentrações de sulfato efluente dos biorreatores fototróficos foram comparadas a partir do teste T de *Wilcoxon* para amostras dependentes pareadas, resultando em concentrações significativamente superiores para o R1-controle nas fases 1 e 3. Nesse sentido, a formação de sulfato foi favorecida nos biorreatores, sendo as concentrações efluentes do R2-suporte significativamente inferiores às apresentadas para o R1-controle nas fases 1 e 3. Tais resultados indicam a possibilidade de maior formação de enxofre elementar associada ao R2-suporte, visto que embora maior remoção de sulfeto dissolvido tenha sido observada, o mesmo não ocorreu para a formação de sulfato, inferior à do R1-controle.

Uma vez que o enxofre elementar produzido biologicamente possui cor branca ou amarelo-palha (JANSSEN *et al.*, 1999), a formação desse composto pôde ser visualizada a partir do precipitado branco presente no efluente dos biorreatores e confirmada por análise cromatográfica de alta eficiência. A Figura 5.7 ilustra o precipitado branco presente no efluente do reator preenchido com meio suporte. Apesar do precipitado branco também ter sido observado no efluente do R1-controle, a biomassa era eventualmente desprendida com o efluente tornando o efluente do R1-controle menos clarificado.

Figura 5.7 - Fotos do precipitado branco presente no efluente do R2-suporte durante a primeira fase do estudo (A) Ensaio de sedimentabilidade do efluente, após 30 minutos. (B) Imagem do precipitado presente no efluente do reator (C) Filtro utilizado para análise de sólidos suspensos após filtrar 250 ml do efluente do reator.

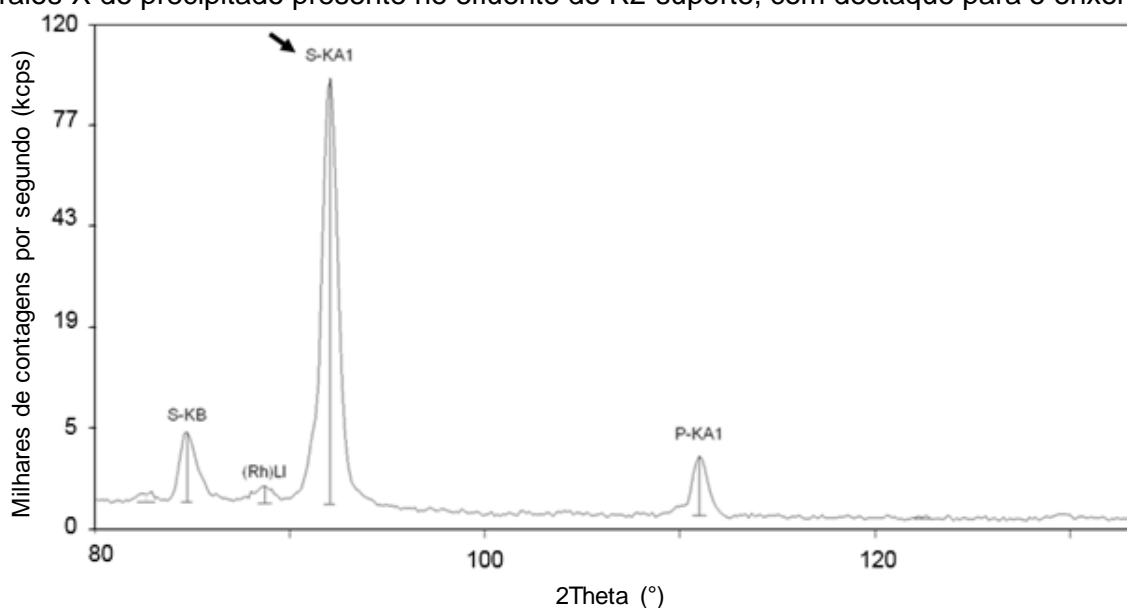


A fim de se determinar os principais elementos químicos constituintes do precipitado branco presentes no efluente do R2-suporte, realizou-se a análise de fluorescência de raios-X (FRX), na qual encontra-se o sinal do elemento químico medido na ordenada (milhares de contagens

por segundo, kcps) e na abcissa, o ângulo entre o elemento e o sistema de detecção (2Theta). Os picos identificados na Figura 5.8 correspondem à difração dos comprimentos de onda dos raios X característicos de alguns dos elementos presentes na amostra.

A análise química elementar da amostra do precipitado branco detectou principalmente os seguintes elementos: enxofre, magnésio, sódio e oxigênio. Estudo realizado por Silva *et al.* (2002) avaliou a composição do precipitado amarelado presente na biomassa, constituído por elementos como enxofre, sódio, alumínio, ferro, potássio, magnésio, fósforo e cálcio. Ao comparar os resultados obtidos por Silva *et al.* (2002) com a análise semiquantitativa realizada na presente pesquisa, verifica-se que elementos como enxofre, magnésio e sódio foram identificados nas duas amostras. A avaliação conjunta dos resultados obtidos por cromatografia (Figura 5.9) e FRX fundamenta a afirmativa de que o precipitado presente no efluente dos biorreatores corresponde ao enxofre elementar.

Figura 5.8 - Parcela dos elementos químicos detectados por espectro de fluorescência de raios-X do precipitado presente no efluente do R2-suporte, com destaque para o enxofre.

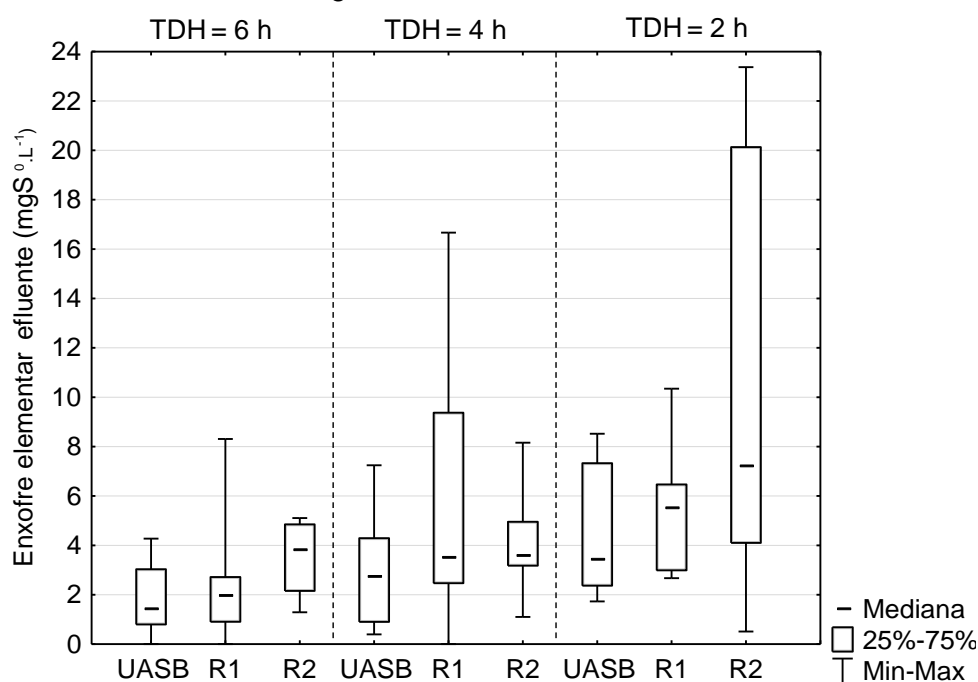


No que diz respeito à formação de enxofre elementar, durante o período monitorado o efluente do R2-suporte apresentou concentrações superiores às do R1-controle, inclusive para a fase 2, na qual apresentou eficiência de remoção de sulfeto inferior à obtida pelo R1-controle (ver Figura 5.9). O R1-controle apresentou concentrações medianas de enxofre elementar efluente de $2,0 \text{ mgS}^0 \cdot \text{L}^{-1}$, $3,6 \text{ mgS}^0 \cdot \text{L}^{-1}$ e $5,6 \text{ mgS}^0 \cdot \text{L}^{-1}$, ao passo que o R2-suporte promoveu maior formação de enxofre elementar, $3,8 \text{ mgS}^0 \cdot \text{L}^{-1}$, $3,6 \text{ mgS}^0 \cdot \text{L}^{-1}$ e $7,3 \text{ mgS}^0 \cdot \text{L}^{-1}$, nas fases 1, 2 e 3, respectivamente. A partir da associação de valores mais elevados ao efluente do R2-suporte,

pode-se presumir que a presença de anéis de polipropileno propiciou maior tempo de retenção celular e consequente formação de enxofre elementar favorecida.

Ao comparar os dados de enxofre elementar obtidos para os reatores UASB e fototróficos, observou-se que há formação do mesmo no reator UASB, provavelmente na zona de decantação do reator. Os reatores fototróficos não foram inoculados e apresentaram coloração verde e púrpura, possivelmente relacionada à ocorrência de sulfobactérias naturalmente presentes no efluente do reator UASB. Sendo assim, ao se considerar a penetração de luz solar na parte superior do reator (compartimento de decantação aberto), é possível pressupor que o enxofre elementar efluente do reator UASB advém da atividade de sulfobactérias presentes na espuma, naturalmente formada e mantida na superfície do decantador do reator UASB.

Figura 5.9 - Concentrações de enxofre elementar efluente dos reatores UASB e fototróficos ao longo das três fases monitoradas



*Resultados obtidos a partir de 16 amostras.

5.3.3 Distribuição de massa de enxofre elementar presente nos biorreatores

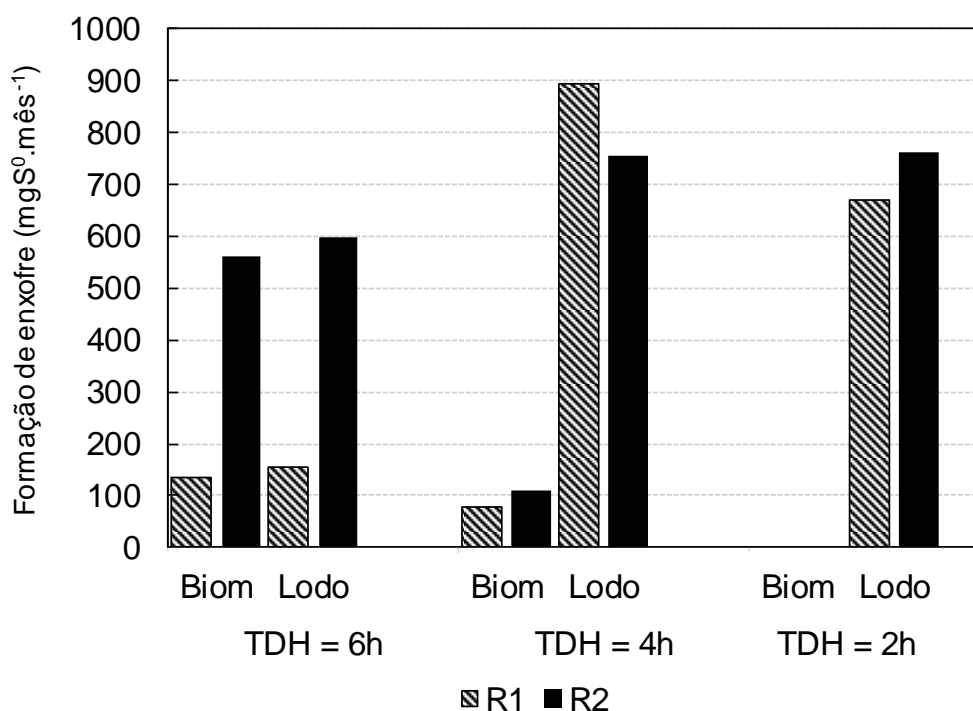
A concentração de enxofre elementar em cada fase dos reatores (efluente, biomassa e lodo) foi determinada por meio de técnica cromatográfica e sua quantificação, realizada a partir do produto da concentração de enxofre elementar e do volume relativo à fase, líquida ou sólida. A análise da distribuição de massa das frações de enxofre buscou avaliar a fase relacionada ao maior acúmulo de enxofre elementar (efluente, lodo ou biomassa). Os resultados de distribuição de massa de enxofre, foram normalizados considerando o período de 30 dias de monitoramento

em cada fase, permitindo assim a comparação entre os valores obtidos para os diferentes TDH testados.

Distribuição de massa de enxofre elementar na biomassa e lodo dos biorreatores

As massas de enxofre elementar acumuladas na biomassa e no lodo durante o período de referência de 30 dias são exibidas na Figura 5.10. Ao comparar a massa de enxofre elementar para os diferentes TDH testados, nota-se que os valores mais elevados, tanto para a biomassa como para o lodo dos biorreatores, são relativos ao R2-suporte, com exceção dos valores obtidos para o enxofre presente no lodo coletado ao final da fase 2, sob TDH de 4 horas. Uma vez que os biorreatores foram operados sob condições idênticas, exceto pela presença ou ausência do meio suporte, ao avaliar o enxofre elementar produzido sugere-se que a adoção de meio suporte favoreceu sua formação no que diz respeito à fração de enxofre presente no lodo e na biomassa.

Figura 5.10 - Massa de enxofre elementar formada mensalmente na biomassa e lodo dos biorreatores sob diferentes condições operacionais no período de 30 dias.



No que diz respeito à massa de enxofre elementar presente na biomassa, observou-se que a redução do TDH influenciou o acúmulo da mesma. A biomassa aderida aos anéis plásticos durante a fase 1 totalizou 562 mgS⁰, valor cinco vezes superior ao acumulado na fase subsequente, 109 mgS⁰. Na avaliação dos resultados obtidos para o R1-controle, considerações semelhantes podem ser realizadas. O enxofre elementar presente na espuma do R1-controle na

fase 1, 134 mgS⁰, foi 40% superior ao produzido na fase seguinte, 79 mgS⁰. Na última fase monitorada, a presença de enxofre elementar não foi detectada na espuma do R1-controle ou na biomassa do R2-suporte. A não detecção de enxofre na biomassa dos reatores pode estar relacionada à menor retenção celular devido ao menor TDH adotado (2 horas) como também ao desprendimento das partículas de enxofre para o efluente, no caso de enxofre produzido extracelularmente.

A comparar a massa de enxofre acumulada na biomassa no período de 30 dias com a relação S⁰formado/S²⁻afluente, apresentada na Tabela 5.4, considerações similares podem ser feitas. À medida que o TDH foi reduzido ao longo das fases avaliadas, é possível observar menores relações entre o enxofre elementar formado presente na biomassa e a massa de sulfeto afluente aos reatores nesse período, indicando a menor formação de enxofre elementar em TDH menores.

Tabela 5.4 - Cargas de sulfeto aplicadas nos biorreatores, eficiências medianas de remoção de sulfeto e relação entre enxofre elementar efluente e sulfeto afluente ao longo do período monitorado.

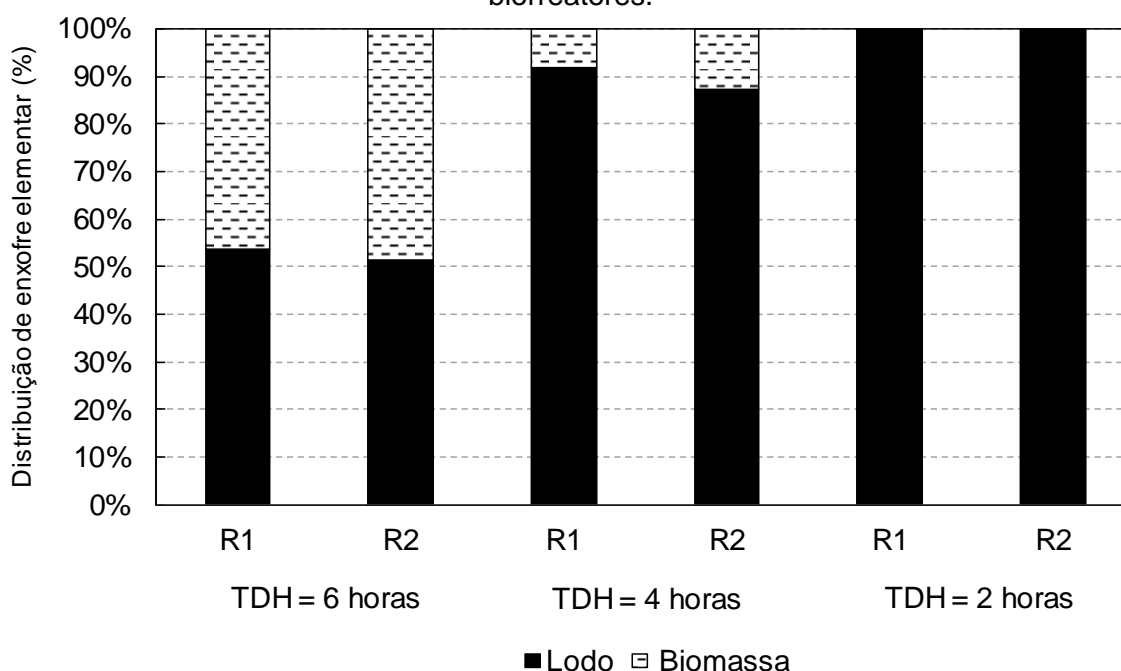
Reator	Carga sulfeto (gS.m ⁻³ d)	Sulfeto removido (%)	S ⁰ formado/S ²⁻ afluente (%)			
			¹ Lodo	¹ Biomassa	² Efluente	Total
R1-controle – 6h	22	78	0,8	0,7	10,1	11,6
R2-suporte – 6h		92	3,1	0,3	43,7	47,1
R1-controle – 4h	40	70	2,5	0,2	12,2	14,9
R2-suporte – 4h		53	2,1	0,3	12,6	15,0
R1-controle – 2h	135	57	0,5	0,0	18,0	18,5
R2-suporte – 2h		70	0,6	0,0	33,3	33,3

¹Resultados obtidos a partir da mediana relativa à análise realizada ao término de cada fase. ²Resultados obtidos a partir da mediana relativa a 10 amostragens.

O lodo acumulado na parte inferior dos biorreatores ao longo do monitoramento apresentou valores expressivos de enxofre elementar nas três fases avaliadas. Com exceção do enxofre elementar presente no lodo na segunda fase do estudo, nas demais fases o R2-suporte apresentou valores superiores para a massa de enxofre elementar acumulada, 598 mgS⁰ - fase 1 e 762 mgS⁰ - fase 3. Enquanto o R1-controle acumulou no mesmo período, 155 mgS⁰ e 671 mgS⁰, respectivamente. A ausência de enxofre elementar na biomassa e detecção do mesmo no lodo é vantajosa, uma vez que facilitaria o processo de recuperação do enxofre elementar, tornando desnecessária a etapa de remoção da biomassa.

Embora a massa de enxofre acumulada na biomassa e no lodo tenha variado entre as fases avaliadas, bem como entre os reatores R1-controle e R2-suporte, a partir da Figura 5.11 nota-se que o percentual de enxofre elementar acumulado na biomassa e lodo dos biorreatores mostrou-se semelhante ao longo das fases em estudo. Para o maior TDH testado, 6 horas, os biorreatores apresentaram cerca de metade do enxofre produzido na biomassa e metade, no lodo. A redução do TDH promoveu o menor acúmulo de enxofre na biomassa dos reatores, com cerca de 10% do enxofre total relativo a lodo e biomassa. Na última fase do estudo, o enxofre elementar presente na biomassa foi inferior ao limite de detecção do método cromatográfico, dessa forma o enxofre elementar foi detectado apenas no lodo dos biorreatores.

Figura 5.11 - Distribuição do enxofre elementar formado no lodo e biomassa dos biorreatores.



A partir do precipitado branco observado no efluente dos biorreatores, supõe-se que a presença de enxofre elementar no lodo dos biorreatores esteja associada ao enxofre elementar extracelular produzido por sulfobactérias verdes. Segundo Janssen *et al.* (1999), as partículas de enxofre elementar produzidas biologicamente, em condições ambientais favoráveis, podem apresentar velocidades de sedimentação superiores a 25 m.h⁻¹. Nesse contexto, a maior distribuição do enxofre elementar no lodo face à biomassa pode ser justificada pela boa sedimentabilidade característica das partículas de enxofre produzidas biologicamente. O enxofre elementar quantificado na biomassa nas fases 1 e 2 pode ser associado à presença de enxofre extracelular e intracelular, sendo o último inerente à ocorrência de sulfobactérias púrpuras.

Ao observar as Figuras 5.10 e 5.11 supõe-se que a redução do TDH propiciou o maior acúmulo de enxofre elementar no lodo, porém ao se considerar a maior carga de sulfeto aplicada (Tabela 5.4), observa-se que a relação $S^0_{\text{formado}}/S^{2-}_{\text{afluente}}$ reduziu ao longo das fases monitoradas. Sendo assim, proporcionalmente, o menor acúmulo de enxofre elementar no lodo dos biorreatores foi observado para o TDH de 2 horas.

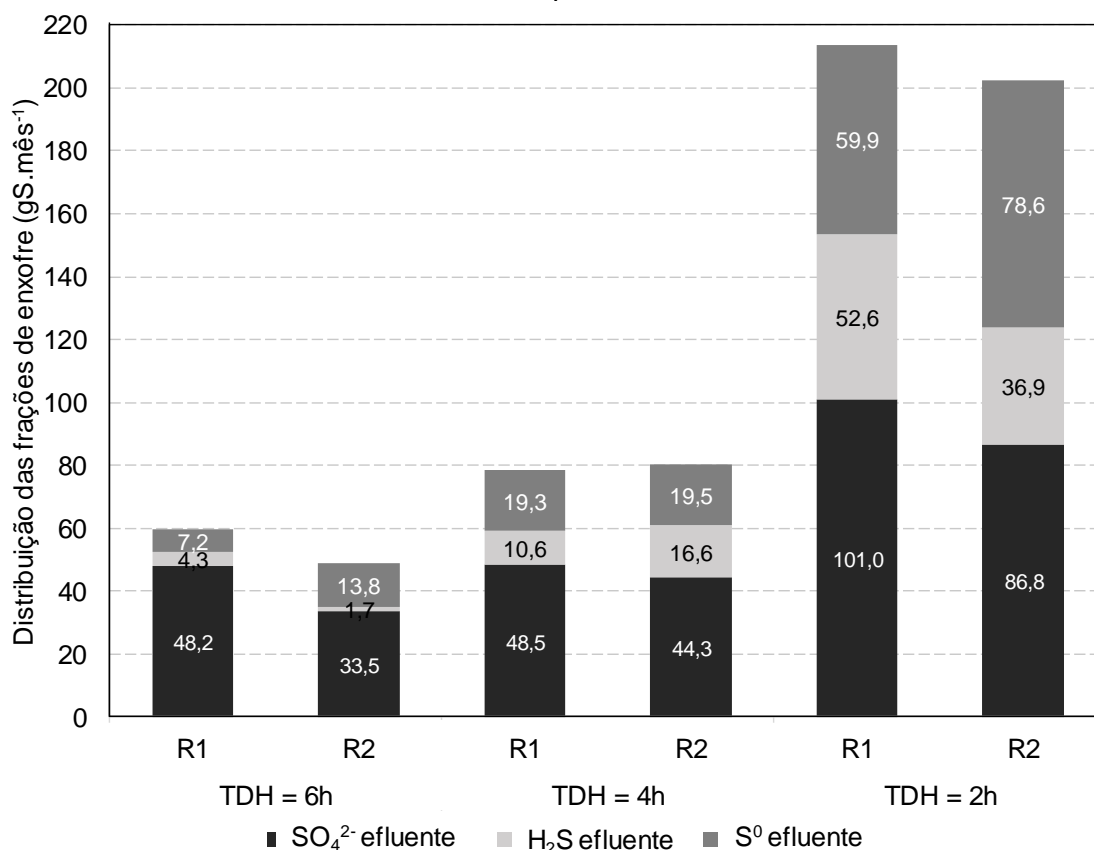
Distribuição das frações de enxofre monitoradas nos biorreatores

As massas dos compostos sulfurosos, na forma de enxofre, acumulados no período de monitoramento de 30 dias, bem como suas distribuições, foram determinadas buscando avaliar a magnitude do enxofre elementar produzido e seu acúmulo nos biorreatores (biomassa e lodo). Devido à baixa representatividade do enxofre acumulado na biomassa e no lodo dos biorreatores, da ordem de 1% do enxofre total, optou-se pela exclusão de tais frações na massa acumulada de enxofre, assim como na sua distribuição.

Nas três fases monitoradas, os biorreatores apresentaram massas de enxofre total similar, com maior variação sob TDH de 6 horas, para o qual se observou enxofre total acumulado no R2-suporte (60 gS) cerca de 20% superior ao totalizado para o R1-controle (50 gS), no período de 30 dias. Nas fases 2 e 3, o enxofre quantificado se mostrou próximo em ambos biorreatores, com diferenças inferiores a 5%. A maior diferença observada na fase 1 pode estar relacionada à ocorrência de frações de enxofre não monitoradas, como exemplo tiosulfato. Nesse contexto, a comparação dos percentuais da distribuição das frações de enxofre monitoradas entre os biorreatores é mais representativa para os valores referentes às fases 2 e 3.

A partir dos dados apresentados na Figura 5.12 nota-se, conforme esperado, o aumento da massa de enxofre acumulada à medida que o TDH foi reduzido. O enxofre acumulado no período de 30 dias no R2-suporte na fase 2 foi 38% superior à fase anterior, ao passo que o R1-controle apresentou menor variação entre as fases 1 e 2, cerca de 25%. A massa de enxofre totalizada para a fase 3 destaca-se em relação às demais fases, no entanto, a mesma não se deve exclusivamente à alteração do TDH, mas também à maior concentração de enxofre na forma de sulfeto presente no efluente do reator UASB durante a terceira fase monitorada, cerca de 50% superior às demais fases. A avaliação da relação $S^0_{\text{formado}}/S^{2-}_{\text{afluente}}$ (Tabela 5.4), permite observar que embora maior massa de S^0 presente no efluente dos biorreatores seja observada para o menor TDH testado, a maior formação de S^0 proporcionalmente à carga aplicada é observada para o R2-suporte em condições de TDH de 6 horas.

Figura 5.12 - Massa de enxofre acumulada nas formas de sulfeto, sulfato e enxofre elementar em um período de 30 dias.

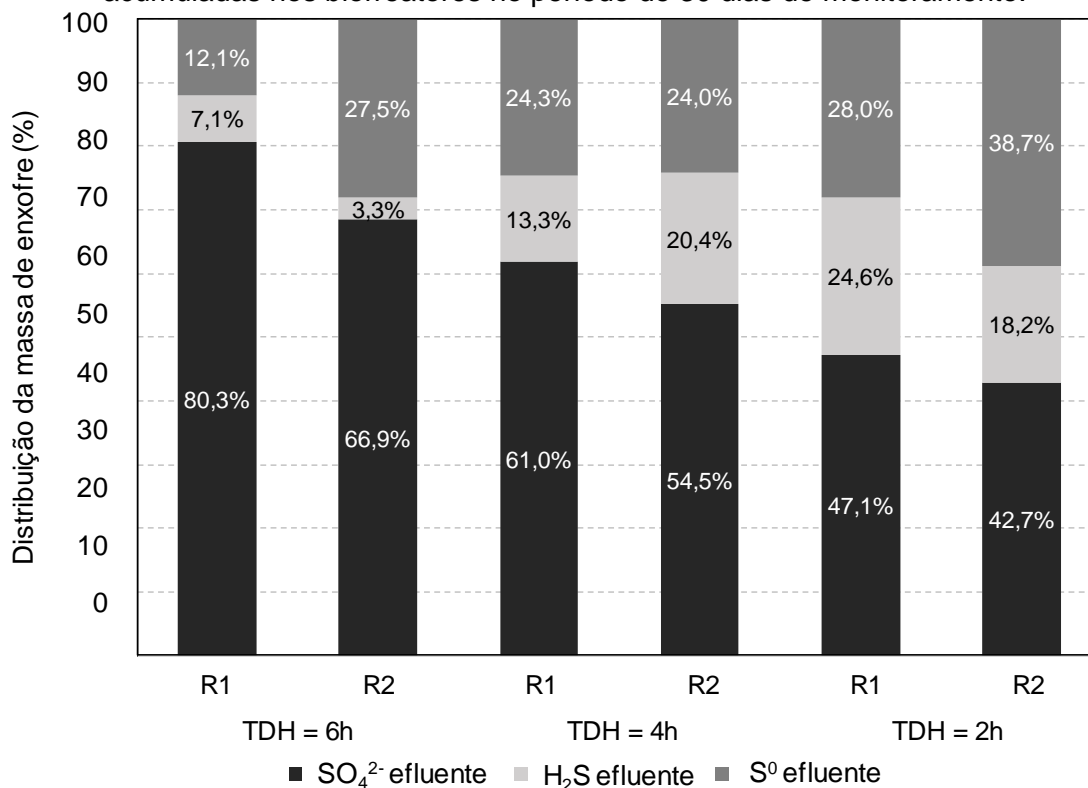


Dos compostos de enxofre monitorados, destaca-se a fração relativa ao sulfato, advindo da oxidação completa do sulfeto somada à parcela comumente presente em efluentes de reator UASB. Conforme determinado pelo Diagrama de *Pourbaix* (ver item 5.3.1), a ocorrência de sulfato foi favorecida quimicamente pelas condições presentes no interior dos reatores (pH e ORP). Ao longo do monitoramento, cerca de 43% a 67% do enxofre total acumulado no período de 30 dias correspondeu à forma sulfato, com exceção do efluente do R1-controle na fase 1, em que a forma de sulfato correspondeu a 80% do enxofre total acumulado (Figura 5.13).

Os percentuais relativos ao enxofre elementar presente no efluente dos biorreatores se mostraram expressivos quando comparados ao percentual das demais frações relativas a biomassa e lodo, inferiores a 1% do enxofre total acumulado no período de 30 dias nas fases avaliadas. Dentre as parcelas consideradas na distribuição de enxofre exibida na Figura 5.13, destaca-se o enxofre elementar efluente do R2-suporte para o menor TDH avaliado, equivalente a cerca de 39% do enxofre total quantificado. O R2-suporte propiciou maior formação de enxofre elementar ao longo da pesquisa, com exceção dos resultados obtidos para a fase 2, para a qual o R1-controle apresentou formação de enxofre elementar similar ao R2-suporte, 24%. Cabe ressaltar que, embora o R2-suporte tenha demonstrado menor eficiência de remoção de

sulfeto para a fase 2, exibiu formação de enxofre elementar equivalente ao R1-controle (ver item 5.3.2).

Figura 5.13 - Percentuais relativos à distribuição da massa das frações de enxofre acumuladas nos biorreatores no período de 30 dias de monitoramento.



Estudo realizado por Garcia *et al.* (2017) avaliou a eficiência de formação de enxofre elementar em um reator contendo anéis de polipropileno sob 6 horas de TDH. Do enxofre total afluente ao reator, cerca de 15% foi associado à sua forma elementar, com 91% do enxofre elementar quantificado presente no efluente do biorreator. Ao avaliar a formação de enxofre elementar sob as mesmas condições, o presente estudo obteve como resultado 27,5% do enxofre total afluente relativo a enxofre elementar, sendo as parcelas referentes à biomassa e ao lodo desconsideradas. A disparidade entre o enxofre elementar formado nos dois estudos pode ser relacionada à carga de sulfeto aplicada aos biorreatores, ao passo que a carga aplicada verificada por Garcia *et al.* (2017) foi $3,5 \text{ gS}^{2-} \cdot \text{m}^{-3}\text{d}$, nesta pesquisa determinou-se $22 \text{ gS}^{2-} \cdot \text{m}^{-3}\text{d}$.

Segundo Buisman *et al.* (1990) visando favorecer a formação de enxofre elementar, no caso de aplicação de bactérias sulfurosas quimiolitotróficas, a concentração de oxigênio ou a carga de sulfeto aplicada devem ser controladas a fim de limitar a oxidação do sulfeto à oxidação parcial. Em caso de utilização de reatores fototróficos, a carga aplicada de sulfeto ou a intensidade luminosa são os potenciais agentes limitantes da oxidação completa a sulfato. Embora a maior

formação de enxofre elementar tenha sido observada para condições de maior carga de sulfeto aplicada, cabe ressaltar que sob condições de TDH reduzido reduz-se também o tempo de exposição do efluente à luz solar, não sendo possível atribuir a maior formação de enxofre elementar exclusivamente à maior carga de sulfeto aplicada.

A elevada concentração de enxofre elementar no efluente é particularmente importante uma vez que demonstra a viabilidade de formação e aproveitamento de enxofre elementar, ainda que sob condições de reduzido TDH. A predominância do enxofre elementar presente no efluente simplificaria o processo de aproveitamento, uma vez que o enxofre presente no lodo e na biomassa deve ser segregado e, caso seja intracelular, deve-se ainda realizar a lise celular para sua extração (MADIGAN, 2010). A recuperação de enxofre elementar é particularmente interessante devido à possibilidade de aproveitamento em processos industriais a partir da geração de ácido sulfúrico ou na agricultura, uma vez que constitui a base de fertilizantes e fungicidas (VANNINI *et al.*, 2008; KLOK *et al.*, 2012; PAQELL, 2016).

Influência do TDH e da presença de meio suporte na formação de enxofre elementar

O total de enxofre elementar produzido no período de 30 dias, para cada fase operacional, assim como suas respectivas frações (biomassa, lodo e efluente) são apresentados na Tabela 5.5. A partir dos resultados obtidos na presente pesquisa observou-se que cerca de 95% do enxofre elementar produzido advém do efluente dos biorreatores.

Tabela 5.5 - Massa de enxofre elementar acumulado durante um mês nos biorreatores.

	S ⁰ Lodo ¹ (g)	S ⁰ Biomassa ¹ (g)	S ⁰ Efluente ² (g)	S ⁰ total (g)
R1-controle – 6h	0,2 (0,0)	0,1 (0,0)	7,2 (8,2)	7,5
R2-suporte – 6h	0,6 (0,1)	0,6 (0,0)	13,8 (5,1)	15,0
R1-controle – 4h	0,9 (0,0)	0,1 (0,0)	19,3 (31,7)	20,3
R2-suporte – 4h	0,8 (0,0)	0,1 (0,1)	19,5 (11,8)	20,3
R1-controle – 2h	0,7 (0,4)	-	60,0 (27,1)	60,7
R2-suporte – 2h	0,8 (2,3)	-	78,6 (88,2)	79,4

¹ Resultados obtidos a partir da mediana relativa à análise realizada ao término de cada fase. ² Resultados obtidos a partir da mediana relativa a 10 amostragens. Em parênteses: Desvio padrão

A partir do enxofre elementar total quantificado em cada fase, observou-se que a redução do TDH esteve associada à maior produção de enxofre na sua forma elementar ao longo do período monitorado, em termos quantitativos. Tal produção pode ser relacionada ao aumento da carga de sulfeto afluente aos biorreatores relativo à redução do TDH. Diversas pesquisas envolvendo

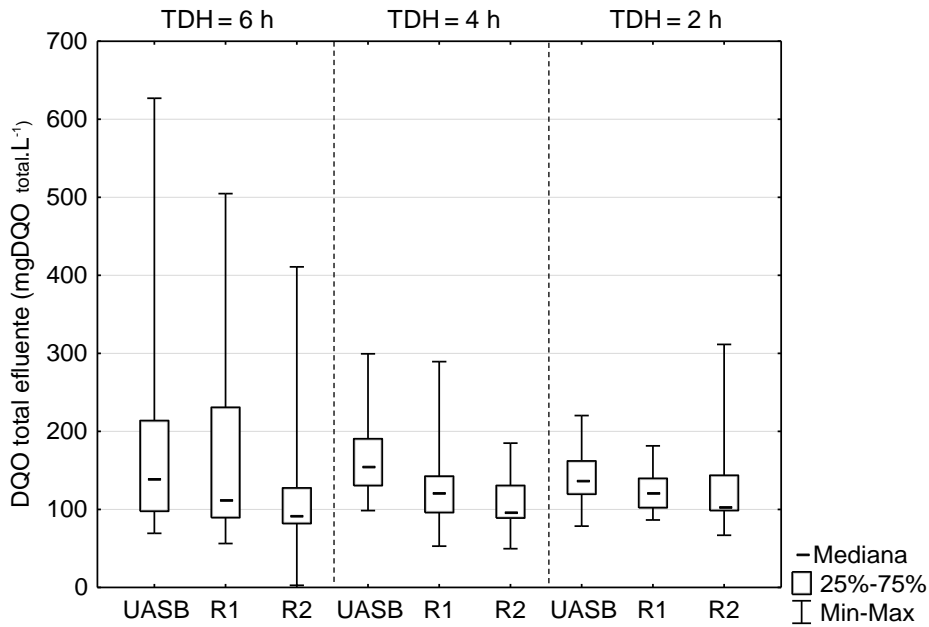
a avaliação de reatores biológicos e elevadas eficiências de formação de enxofre elementar adotaram elevados TDH, da ordem de 12 h a 48 h (REYES-AVILA *et al.*, 2004; Silva, 2005; BERISTAIN-CARDOSO *et al.*, 2011; FAJARDO *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2015). Nesse contexto, a partir dos resultados obtidos supõe-se que a influência da maior carga de sulfeto aplicada se sobrepôs ao efeito da redução do TDH, favorecendo assim a formação de enxofre elementar mesmo sob condições de baixo TDH (2 horas).

No que concerne à influência da presença do meio suporte, a partir do enxofre elementar total produzido no período de 30 dias, nota-se que nas três fases monitoradas o R2-suporte apresentou valores iguais ou superiores aos obtidos para o R1-controle. Embora na fase 2 a produção de enxofre elementar para ambos reatores tenha se mostrado similar, nas fases 1 e 3 o R2-suporte apresentou produção de enxofre elementar total 50% e 25% superior ao R1-controle, respectivamente.

5.3.4 Remoção de matéria orgânica residual

Os resultados obtidos para o parâmetro DQO total ao longo das três fases monitoradas nesta pesquisa são reportados na Figura 5.14. A partir dos valores apresentados nota-se que a adoção de biorreatores fototróficos como alternativa de pós-tratamento possibilitou a redução da DQO total efluente do reator UASB, com destaque para as concentrações efluentes do R2-suporte, inferior às do R1-controle durante as três fases monitoradas. As maiores eficiências medianas de remoção de DQO total foram observadas para o R2-suporte nas fases 1 e 2, cerca de 40%. A maior eficiência de remoção de DQO total observada para o R1-controle esteve relacionada à fase 2, da ordem de 28%. Demais eficiências de remoção ao longo do monitoramento são apresentadas na Figura 5.15.

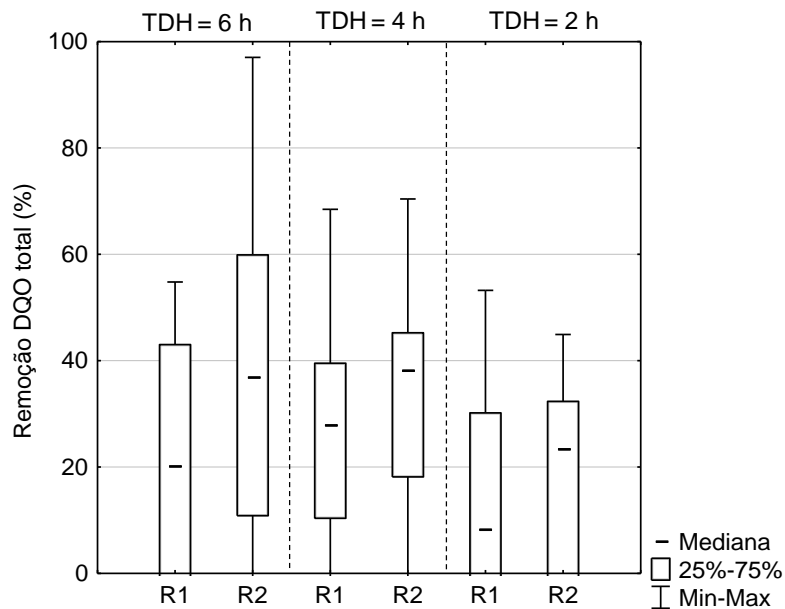
Figura 5.14 - Concentração de DQO total efluente dos reatores UASB e fototróficos ao longo do período monitorado.



*Resultados obtidos a partir de 16 amostras.

Nas três fases avaliadas o R1-controle apresentou concentrações medianas efluentes de DQO total de 113,2 mgDQO_{Total}.L⁻¹, 122,3 mgDQO_{Total}.L⁻¹ e 120,7 mgDQO_{Total}.L⁻¹, enquanto o R2-suporte apresentou concentrações medianas inferiores, próximas a 91,5 mgDQO_{Total}.L⁻¹, 96,0 mgDQO_{Total}.L⁻¹ e 104,4 mgDQO_{Total}.L⁻¹, nas fases 1, 2 e 3, respectivamente.

Figura 5.15 - Eficiências de remoção de DQO total nas três fases estudadas.



A comparação entre as concentrações medianas de DQO total efluente dos biorreatores e do reator UASB foi realizada a partir do teste estatístico para amostras independentes, *Kruskal-*

Wallis, a nível de significância de 5%. Ao longo do período monitorado, os biorreatores apresentaram DQO total efluente significativamente inferior à DQO total efluente do reator UASB, com exceção do R1-controle na fase 3, para o qual diferenças significativas entre as medianas não foram observadas.

O efeito do meio suporte foi analisado a partir do Teste T de *Wilcoxon* para amostras pareadas, para o mesmo nível de significância ($\alpha = 5\%$). A comparação entre as concentrações medianas de DQO total efluente dos biorreatores demonstrou a inexistência de diferença significativa entre os reatores R1-controle e R2-suporte nas fases 1 e 3. O mesmo não ocorreu durante a fase 2, na qual a concentração mediana de DQO total efluente do R2-suporte foi significativamente inferior ao R1-controle. Os resultados obtidos a partir de testes estatísticos, juntamente com os resultados observados nas Figuras 5.14 e 5.15, demonstram a melhor qualidade do efluente final no que diz respeito à remoção de matéria orgânica residual alcançada pelo R2-suporte, atribuída à presença do meio suporte em questão. Além de maiores eficiências de remoção, o meio suporte promoveu maior estabilidade ao sistema, inclusive sob condições de baixo TDH (2 horas).

As concentrações medianas de DQO total efluente do reator UASB nas três fases monitoradas (139,4 mgDQO_{Total}.L⁻¹, 154,5 mgDQO_{Total}.L⁻¹, 138,2 mgDQO_{Total}.L⁻¹) estão de acordo com a faixa de DQO total determinada por estudos realizados, entre 100 e 200 mgDQO_{Total}.L⁻¹ (FLORENCIO *et al.*, 2001; BAREA; ALÉM SOBRINHO, 2006; PEÑA *et al.*, 2006; CHERNICHARO *et al.*, 2009; ROSA *et al.*, 2012; PANDEY; DUBEY, 2014). Considerando a DQO total mediana obtida na caracterização do esgoto bruto afluente ao reator UASB, 515,7 mgDQO_{Total}.L⁻¹, nas três fases monitoradas o reator UASB apresentou eficiências de remoção entre 70% e 73%, valores próximos aos obtidos por estudos que avaliaram reatores UASB tratando esgoto doméstico (entre 64% e 77%) (FLORENCIO *et al.*, 2001; CARRARO, 2006; TACHINI *et al.*, 2006; ROSA *et al.*, 2012). A eficiência global do sistema composto por reator UASB seguido de reator fototrófico, calculada a partir da concentração mediana do esgoto bruto (515,7 mgDQO_{Total}.L⁻¹), apresentou valores entre 76% e 77% para o R1-controle e, entre 79 e 82% para o R2-suporte, durante as três fases monitoradas.

Embora a legislação nacional vigente não inclua o parâmetro DQO, a Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH nº 01/2008, estabelece 180 mgDQO_{Total}.L⁻¹ como padrão de lançamento estadual para sistemas de efluente sanitário. Nesse contexto, observa-se que embora os resultados obtidos para o parâmetro DQO total tenham apresentado variações ao longo do

período monitorado, as concentrações medianas efluentes do reator UASB (139,4 mgDQO_{Total}.L⁻¹, 154,5 mgDQO_{Total}.L⁻¹, 138,2 mgDQO_{Total}.L⁻¹) estiveram de acordo com a legislação do estado de Minas Gerais.

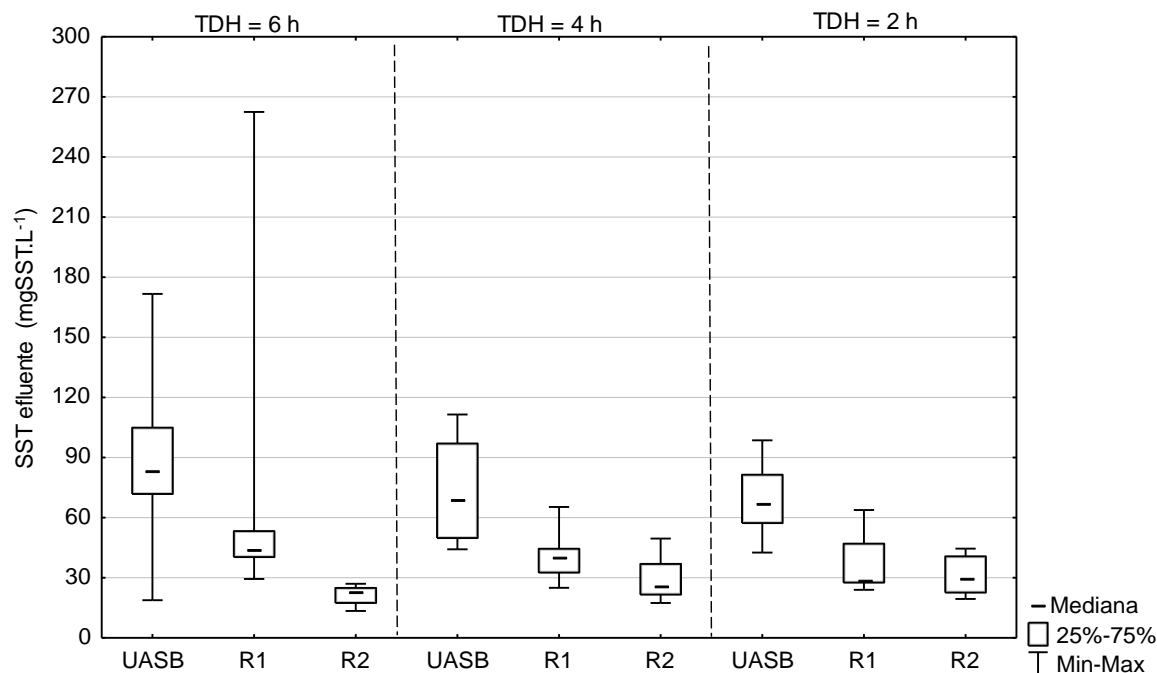
A matéria orgânica solúvel, fração prontamente disponível para assimilação pelos microrganismos, não variou expressivamente ao longo da linha de tratamento adotada. Nas fases monitoradas os biorreatores apresentaram concentrações de DQO solúvel pouco superiores às do efluente do reator UASB. Nas fases 1 e 2, ambos biorreatores apresentaram concentrações similares de DQO solúvel de 52 mgDQO_{Solúvel}.L⁻¹ e 56 mgDQO_{Solúvel}.L⁻¹. Na terceira fase a DQO solúvel efluente do R2-suporte, 79 mgDQO_{Solúvel}.L⁻¹, foi superior à do R1-controle, 74 mgDQO_{Solúvel}.L⁻¹. Os testes estatísticos paramétrico (Teste T de *Wilcoxon*) e não paramétrico (*Kruskal-Wallis*) realizados para um nível de significância de 5%, a fim de se comparar a DQO solúvel presente no efluente dos reatores UASB e fototróficos, não apresentaram diferenças significativas entre as concentrações medianas de DQO solúvel presente no efluente do reator UASB e dos biorreatores ou entre os biorreatores.

Uma vez que a diversidade microbiológica é influenciada pela matéria orgânica presente no ambiente (ELSHAHED *et al.*, 2003), concentrações significativamente diferente de matéria orgânica poderiam estar relacionadas à estrutura microbiana presente nos biorreatores. No entanto, principalmente no que diz respeito à DQO solúvel efluente dos biorreatores, diferenças expressivas não foram observadas a fim de embasar pressuposições relacionadas à implicação de diferentes concentrações de matéria orgânica nos reatores. Sendo assim a DQO solúvel não pode ser associada a fator limitante ou favorável à maior ocorrência de bactérias (HENZE *et al.*, 2001).

5.3.5 Remoção de sólidos suspensos

A natureza dos sólidos suspensos foi avaliada a partir das frações de sólidos suspensos fixos e voláteis. Os resultados relativos às concentrações de sólidos suspensos totais são apresentados na Figura 5.16. Nas três etapas do estudo, a concentração de SST efluente dos biorreatores foi inferior às concentrações do reator UASB. Os valores de SST obtidos para o efluente do reator UASB nas três fases monitoradas estiveram entre 67,6 mgSST.L⁻¹ e 83,7 mgSST.L⁻¹, de acordo com a faixa determinada por estudos que avaliaram reatores UASB tratando esgoto doméstico, entre 60 mgSST.L⁻¹ e 80 mgSST.L⁻¹ (PEÑA *et al.*, 2000; FLORENCIO *et al.*, 2001; CHERNICHARO *et al.*, 2009; FRANCO, 2010).

Figura 5.16 - Concentração de sólidos suspensos totais efluente dos reatores UASB e fototróficos nas três fases avaliadas.



*Resultados obtidos a partir de 8 amostras.

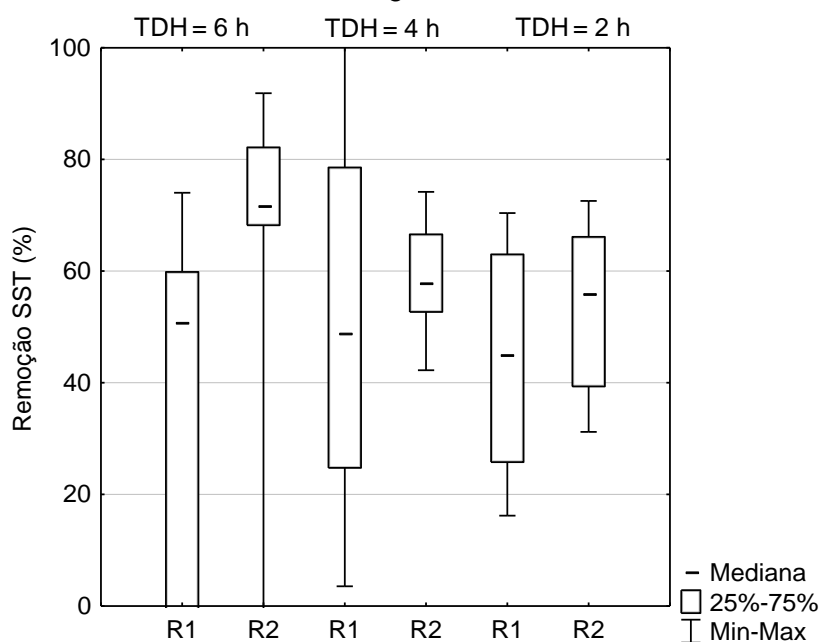
A partir da Figura 5.16 nota-se que nas fases 1 e 2 o R2-suporte apresentou concentrações medianas de SST inferiores às do R1-controle, 22,8 mgSST.L⁻¹ e 44,7 mgSST.L⁻¹, na fase 1, e 26,4 mgSST.L⁻¹ e 40,5 mgSST.L⁻¹, na fase 2. O mesmo não ocorreu para a fase 3, na qual as medianas relativas aos reatores R1-controle e R2-suporte se apresentaram próximas, cerca de 29 mgSST.L⁻¹. A partir dos resultados obtidos nota-se que a presença de meio suporte favoreceu a maior retenção de sólidos nas fases 1 e 2, se comparada à retenção apresentada pelo R1-controle. No entanto, ao reduzir o TDH para 2 horas, o desempenho do R2-suporte foi comprometido, apresentando concentração de sólidos suspensos próximas às do R1-controle. Supõe-se que a maior vazão relativa ao TDH de 2 horas favoreceu o desprendimento da biomassa aderida aos anéis plásticos e a presença de meio suporte não proporcionou eficiência superior à observada para o R1-controle.

Os resultados apresentados indicam a contribuição do sistema de pós-tratamento por reatores fototróficos em relação à remoção/retenção de sólidos suspensos, e consequente melhoria da qualidade do efluente final. Tanto a concentração de SST efluente do reator UASB, como a concentração efluente dos biorreatores, se manteve abaixo do limite de lançamento estabelecido pela Deliberação Normativa Conjunta COPAM/CERH nº 01/2008, 100 mgSST.L⁻¹. Os resultados foram particularmente marcantes para o reator R2-suporte, muito provavelmente devido à melhor retenção de biomassa promovida pela presença do meio suporte, garantindo

menor desprendimento de sólidos para o efluente final. Para esse reator, a concentração mediana efluente de SST nas três fases estudadas foi inferior a 30 mgSST.L^{-1} ao longo das fases monitoradas, compatível com padrões bastante restritivos de lançamento.

Em relação à concentração de SST presente no efluente do reator UASB, os reatores R1-controle e R2-suporte apresentaram eficiências medianas de remoção (Figura 5.17) da ordem de 51% e 72% na fase 1, 49% e 58% na fase 2, e 45% e 56% na fase 3. Ao comparar as concentrações medianas efluentes de sólidos suspensos do reator UASB ao longo das três fases, $83,7 \text{ mgSST.L}^{-1}$, $68,9 \text{ mgSST.L}^{-1}$ e $67,6 \text{ mgSST.L}^{-1}$, observa-se que na fase inicial o efluente do reator UASB apresentou concentração mediana superior às demais. Sendo assim, apesar da maior concentração de sólidos suspensos totais efluente do reator UASB durante a fase 1, o R2-controle alcançou a maior eficiência dentre as três fases monitoradas, 72%, com concentração efluente de $22,8 \text{ mgSST.L}^{-1}$.

Figura 5.17 - Remoção de sólidos suspensos totais presentes no efluente do reator UASB e biorreatores ao longo das fases avaliadas.



Os testes estatísticos realizados estatísticos para amostras independentes (*Kruskal-Wallis*) e dependentes (T de *Wilcoxon*) para 5% de nível de significância permitiram concluir que a concentração de SST efluente do reator UASB diferiu significativamente somente do efluente do R2-suporte e o efluente dos biorreatores diferiram significativamente para as fases 1 e 2. Na última fase do estudo, os biorreatores não apresentaram diferenças significativas em relação à concentração mediana de SST efluente. Dessa forma, a presença de meio suporte proporcionou maior retenção/remoção de SST nas duas fases iniciais do estudo, porém ao reduzir o TDH para

2 horas, o meio suporte não promoveu melhoria da qualidade do efluente final no que se refere ao parâmetro SST.

Nas duas fases iniciais o efluente do reator UASB apresentou menor relação SSV/SST se comparado aos resultados obtidos para os efluentes dos reatores fototróficos, entre 80 e 90%. Nas fases 1 e 2, a quase a totalidade dos sólidos suspensos presentes no efluente dos biorreatores constituiu-se de sólidos voláteis, com relações SSV/SST entre 90 e 100%. Na terceira fase o comportamento dos resultados obtidos para o R2-suporte diverge do observado nas fases anteriores, com relação SSV/SST, de 75%, indicando o arraste de sólidos fixos para o efluente.

Após realizar o balanço de massa de sólidos constatou-se que os reatores fototróficos apresentaram maior relação SSV/SST devido à retenção dos sólidos suspensos fixos no compartimento de fundo dos reatores. Nas duas fases iniciais de estudo, tanto o R1-controle como o R2-suporte apresentaram cerca de 30% de sólidos totais fixos na composição dos sólidos presentes no lodo acumulado. Na fase 3, o lodo acumulado no R1-controle ao longo do monitoramento apresentou cerca de 30% de sólidos totais fixos em sua composição, inferior à concentração de sólidos totais fixos acumulado no lodo do R2-suporte, da ordem de 50%. O elevado teor de sólidos voláteis presentes no lodo retido no compartimento situado na região inferior dos reatores, indica a estabilização incompleta do lodo acumulado e a necessidade de uma etapa de digestão seguida de desidratação para aproveitamento ou disposição final (VON SPERLING, 2014).

5.3.6 Monitoramento das concentrações de compostos nitrogenados

Estudos recentes relataram a possibilidade da utilização de nitrato como aceptor de elétrons por bactérias oxidadoras de sulfeto, ao invés do gás carbônico, aliada à elevada conversão parcial de sulfeto a enxofre elementar (CHEN *et al.*, 2009; HUANG *et al.*, 2015; LIU *et al.*, 2015). Diante dos estudos já realizados e escassas informações relativas à remoção simultânea de compostos sulfurosos e nitrogenados presentes em efluente real com baixas concentrações de sulfeto (KRISHNAKUMAR *et al.*, 2005, BERISTAIN-CARDOSO *et al.*, 2011) buscou-se determinar as reações de compostos nitrogenados no interior dos biorreatores.

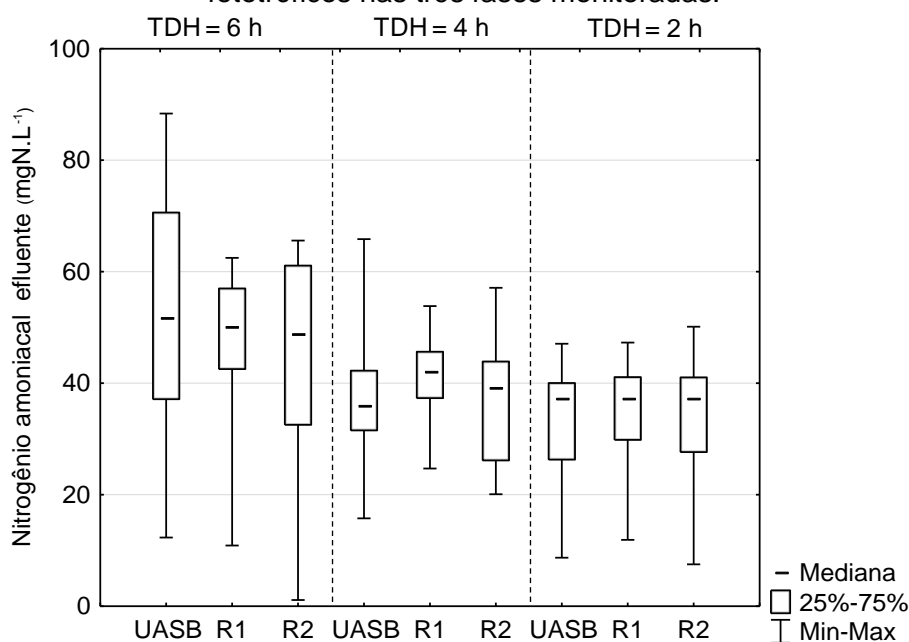
Embora o efluente do reator UASB seja constituído apenas por compostos reduzidos de nitrogênio (FORESTI *et al.*, 2006), a utilização de reatores fototróficos poderia proporcionar a produção de oxigênio por seres fotossintetizantes e, conseqüentemente, oxidação de compostos reduzidos de nitrogênio. Visando determinar as reações presentes no interior dos reatores

fototróficos, as frações nitrogenadas foram determinadas a partir da análise de amônia, nitrito e nitrato, na forma de nitrogênio.

Ao longo das fases monitoradas, as concentrações medianas de nitrogênio amoniacal presente no efluente do reator UASB estiveram entre 36,2 mgN.L⁻¹ e 51,9 mgN.L⁻¹, valores de acordo com resultados obtidos por Torres e Foresti (2001), entre 30 mgN.L⁻¹ e 50 mgN.L⁻¹. A partir da Figura 5.18, observa-se que concentrações medianas de nitrogênio amoniacal presente no efluente dos biorreatores foram próximas às concentrações medianas determinadas para o efluente do reator UASB.

As eficiências médias de remoção de nitrogênio amoniacal dos biorreatores R1-controle e R2-suporte na fase 1 foram similares, 13% e 15%, porém ao se comparar as medianas das amostras analisadas tal remoção é reduzida para apenas 4% e 6%, respectivamente. Na segunda fase do estudo, a partir da Figura 5.18 é possível observar que a concentração de nitrogênio amoniacal efluente dos biorreatores foi próxima à do efluente do reator UASB ou ligeiramente superior, significando que o processo de amonificação continuou a ocorrer nos reatores ou permaneceu inalterado. Dessa forma, uma vez que compostos oxidados de nitrogênio não foram detectados, as condições presentes no interior dos biorreatores não favoreceram a ocorrência de desnitrificação autotrófica e oxidação de sulfeto simultaneamente. Pode-se afirmar que a oxidação biológica de sulfeto esteve associada à utilização de CO₂ como acceptor de elétrons.

Figura 5.18 - Concentração de nitrogênio amoniacal no efluente dos reatores UASB e fototróficos nas três fases monitoradas.



*Resultados obtidos a partir de 16 amostras.

No que diz respeito às concentrações de nitrogênio nas formas de nitrito e nitrato, os resultados obtidos foram inferiores aos limites de detecção dos métodos utilizados e, por isso, não foram representativos nas conversões presentes no interior dos reatores. Na fase 3, os valores relativos às concentrações medianas de nitrogênio na forma de nitrato efluente dos reatores UASB, R1-controle e R2-suporte, $0,1 \text{ mgN.L}^{-1}$, $0,3 \text{ mgN.L}^{-1}$ e $0,2 \text{ mgN.L}^{-1}$, foram superiores às demais fases nas quais o parâmetro não foi quantificado porém, não podem ser considerados representativos no que se refere às conversões presentes no interior dos biorreatores.

No que diz respeito à limites de lançamento estabelecidos para compostos nitrogenados, a legislação nacional e estadual de Minas Gerais estabelecem os limites 10 mgN.L^{-1} e 1 mgN.L^{-1} para nitrato e nitrito, respectivamente, valores acima dos detectados no presente estudo. Em relação ao nitrogênio presente na forma de nitrogênio amoniacal, embora a legislação nacional atualmente não estabeleça limite para o lançamento de cargas nitrogenadas efluentes de sistemas de tratamento de esgoto doméstico, a reformulação das normas possivelmente levará à incorporação de um padrão de lançamento de nitrogênio amoniacal. Considerando-se o valor máximo anteriormente estabelecido para efluentes domésticos, de 20 mgN.L^{-1} (atualmente em vigor apenas para efluentes industriais), as concentrações medianas de nitrogênio amoniacal presentes no efluente dos biorreatores estariam em desacordo com o mesmo, uma vez que os valores obtidos estiveram entre $37,3 \text{ mgN.L}^{-1}$ e $48,8 \text{ mgN.L}^{-1}$.

5.3.7 Síntese dos resultados obtidos

Oxidação biológica de sulfeto em reatores fototróficos tratando efluente de reator UASB

As concentrações medianas e desvios padrão dos diversos parâmetros monitorados ao longo das três fases, além das cargas de sulfeto aplicadas e relações calculadas, são sumarizadas na Tabela 5.6. A análise conjunta dos gráficos gerados, dos valores medianos e desvios padrão permite a avaliação da variabilidade dos dados em cada fase.

Embora a oxidação parcial de sulfeto a enxofre elementar tenha sido comprovada, as condições presentes no interior dos reatores fototróficos favoreceram, prioritariamente, a oxidação completa a sulfato. A redução do TDH propiciou maior concentração de enxofre elementar efluente, embora o mesmo não tenha ocorrido para a remoção sulfeto, com eficiências superiores de remoção para o maior TDH testado, 6 horas. Nas três fases avaliadas o R2-suporte apresentou concentrações de enxofre elementar iguais ou superiores ao R1-controle, ao passo que o inverso ocorreu para o parâmetro sulfato.

Tabela 5.6 - Carga de sulfeto aplicada, eficiência mediana de remoção de sulfeto e concentrações efluentes das frações de enxofre monitoradas no reator UASB e biorreatores.

		Carga S ²⁻ (gS.m ⁻³ d ⁻¹)	S ²⁻ removido (%)	Concentrações efluentes (mg.L ⁻¹)			S ⁰ formado/S ²⁻ afluente (%)
				¹ S ²⁻	¹ SO ₄ ²⁻	² S ⁰	
6 horas	Reator UASB		-	5,4 (6,0)	8,9 (3,6)	1,5 (1,4)	-
	R1-controle	22	78	1,2 (1,6)	40,2 (14,9)	2,0 (2,3)	11,6
	R2-suporte		91	0,5 (0,5)	28,0 (8,9)	3,8 (1,4)	47,1
4 horas	Reator UASB		-	6,6 (2,8)	9,6 (3,4)	2,8 (2,4)	-
	R1-controle	40	70	2,0 (1,1)	27,0 (8,7)	3,6 (5,9)	14,9
	R2-suporte		53	3,1 (1,9)	24,6 (13,0)	3,6 (2,2)	15,0
2 horas	Reator UASB		-	11,3 (4,5)	8,6 (2,8)	3,5 (2,7)	-
	R1-controle	135	57	4,9 (3,5)	28,1 (12,3)	5,6 (2,5)	18,5
	R2-suporte		70	3,4 (1,1)	24,1 (9,0)	7,3 (8,2)	33,3

Resultados obtidos a partir da mediana relativa a 16 (1) e 10 amostragens (2). Em parênteses: Desvio padrão

Desempenho global de reatores fototróficos como alternativa de pós-tratamento de efluente de reator UASB

As concentrações medianas e desvios padrão dos parâmetros monitorados relacionados ao desempenho global do sistema são sintetizadas na Tabela 5.7.

Tabela 5.7 - Concentrações medianas efluentes de DQO, SST e de nitrogênio amoniacal para os reatores monitorados ao longo das três fases monitoradas.

		Concentrações efluentes (mg.L ⁻¹)				
		DQO total	DQO solúvel	SST	SSV	NH ₄ ⁺ -N
	Reator UASB	139,4 (138,4)	35,6 (21,3)	83,7 (44,2)	76,2 (32,3)	51,9 (21,1)
6 horas	R1-controle	113,2 (143,4)	51,9 (22,2)	44,6 (77,8)	45,0 (74,4)	50,1 (16,6)
	R2-suporte	91,5 (90,1)	52,3 (66,8)	22,8 (5,1)	21,91 (55,1)	48,8 (19,6)
	Reator UASB	154,5 (57,9)	50,5 (27,6)	68,9 (25,7)	56,3 (24,2)	36,2 (11,8)
4 horas	R1-controle	122,3 (51,2)	55,9 (29,9)	40,5 (12,5)	36,5 (7,0)	42,0 (9,1)
	R2-suporte	96,0 (33,5)	55,7 (26,1)	26,4 (12,0)	25,9 (10,5)	39,4 (10,8)
	Reator UASB	138,2 (40,2)	68,6 (23,3)	67,6 (17,7)	58,5 (11,1)	37,5 (11,8)
2 horas	R1-controle	120,7 (29,4)	74,4 (19,5)	29,1 (14,1)	28,4 (10,5)	37,2 (8,9)
	R2-suporte	104,4 (62,4)	79,4 (24,2)	29,7 (9,8)	22,4 (14,1)	37,4 (11,8)

A análise dos valores medianos juntamente com os desvios padrão das amostras possibilitam a avaliação da variabilidade dos resultados obtidos. Para o parâmetro DQO total, por exemplo, nota-se que os resultados obtidos apresentaram menor variabilidade para o R2-suporte nas fases 1 e 2. O mesmo não ocorreu para a fase 3, na qual o desvio apresentado foi superior ao do reator UASB, possivelmente devido ao menor TDH adotado. A partir das discussões realizadas ao longo do capítulo e dos valores exibidos na Tabela 5.7 nota-se que de modo geral a presença do meio suporte proporcionou a melhor qualidade do efluente final, com exceção aos parâmetros DQO solúvel e nitrogênio amoniacal.

5.4 Conclusões

A utilização de biorreatores fototróficos como alternativa de pós-tratamento de efluente anaeróbico real foi avaliada no que diz respeito principalmente à remoção de sulfeto de

hidrogênio e formação de enxofre elementar. A partir da avaliação dos resultados obtidos, conclui-se que:

- As maiores eficiências de remoção de sulfeto foram observadas em ambos biorreatores para condições de maior TDH testado, 6 horas, com eficiências medianas de oxidação de 75% e 92% para o R1-controle e R2-suporte, respectivamente. Sendo assim, no que diz respeito à eficiência de oxidação de sulfeto, o efeito da redução de TDH se sobrepôs ao aumento da carga de sulfeto aplicada.
- A fração de enxofre elementar presente no efluente dos biorreatores correspondeu a cerca de 95% do enxofre elementar total produzido, indicando a maior formação de enxofre extracelular e possibilidade de recuperação a partir do efluente. Ao passo que menores eficiências de remoção de sulfeto em ambos biorreatores foram observadas a partir da redução do TDH, o inverso ocorreu para a formação de enxofre elementar, favorecida devido às maiores cargas de sulfeto aplicadas, em termos de massa de enxofre elementar total produzida. A formação de enxofre elementar a partir do R2-suporte se mostrou superior ao R1-controle, indicando que a presença de meio suporte favoreceu a oxidação parcial de sulfeto a enxofre elementar.
- A adoção de biorreatores fototróficos como alternativa de pós-tratamento propiciou melhoria da qualidade do efluente final, com destaque para o R2-suporte, com valores de DQO total e SST próximos a $100 \text{ mgDQO}_{\text{Total}} \cdot \text{L}^{-1}$ e $30 \text{ mgSST} \cdot \text{L}^{-1}$, respectivamente. Em relação aos compostos nitrogenados, as espécies presentes no efluente dos biorreatores foram similares às comumente presentes em fluente de reator UASB, sendo a fração nitrogenada principalmente atribuída à presença de nitrogênio amoniacal. Dessa forma, as condições presentes no interior dos biorreatores não propiciaram a ocorrência simultânea de desnitrificação autotrófica e oxidação de sulfeto.
- O melhor desempenho global observado para o R2-suporte sugere que a presença de meio suporte proporcionou a melhoria da qualidade do efluente final inclusive sob condições de TDH reduzido (2 horas), possivelmente devido a maior retenção de microrganismos associada à presença de meio suporte.

6 CARACTERIZAÇÃO DA COMUNIDADE MICROBIANA DESENVOLVIDA EM BIORREATORES FOTOTRÓFICOS OPERADOS SOB DIFERENTES TDH E CONDIÇÕES DE MEIO SUPORTE

6.1 Introdução

A remoção biológica de sulfeto em correntes líquidas ou gasosas pode ocorrer a partir da atividade de bactérias fototróficas ou quimiolitotróficas, sob condições aeróbias, anóxicas ou anaeróbias (CAMILOTI, 2012). As bactérias oxidadoras de sulfeto são agrupadas de acordo com o composto de enxofre utilizado, coloração e condições ambientais em que estão presentes. A via aeróbia de oxidação de sulfeto é realizada por sulfobactérias incolores, enquanto a oxidação anaeróbia ocorre a partir da fotossíntese anoxigênica, realizada por bactérias verdes e púrpuras (MADIGAN, 2010).

Embora eficiente no que diz respeito à oxidação biológica de sulfeto, a via aeróbia possui como desvantagens associadas ao processo: demanda energética e riscos de explosão, associados à operação de reatores contendo altas concentrações de oxigênio. A oxidação biológica anaeróbia possui como aspectos positivos baixo custo, elevada eficiência e simplicidade operacional. As principais limitações do processo são relacionadas à luminosidade requerida e, necessidade de material transparente em caso de adoção de luz solar (JANSSEN *et al.*, 1999; JENSEN; WEBB, 1995).

A via biológica anaeróbia, avaliada a partir de reatores fototróficos utilizados nesta pesquisa, é realizada por sulfobactérias verdes e púrpuras, microrganismos que obtém energia a partir da luz solar (FRIEDRICH *et al.*, 2005; MADIGAN, 2010). Uma vez que a eficiência do processo é similar à das reações quimiolitotróficas, os baixos requisitos de nutrição e energia tornam o processo anaeróbio uma opção atrativa (TANG *et al.*, 2009).

As bactérias fototróficas púrpuras são representadas por gêneros como *Chromatium*, *Rhabdochromatium*, *Thermochromatium*, *Isochromatium*, *Marichromatium* e *Thioalkalicoccus*. Embora a maioria dos gêneros realize o acúmulo de enxofre elementar intracelularmente, alguns gêneros em particular formam enxofre elementar extracelularmente: *Ectothiorhodospira*, *Thiorhodospira* e *Halorhodospira* (MADIGAN, 2010). Em contrapartida, o enxofre elementar formado a partir da atividade de sulfobactérias verdes é extracelular. No que se refere aos gêneros das bactérias verdes, é possível citar exemplos como *Chlorobium*, *Pelodictyon*, *Ancalochloris* e *Chloroherpeton*.

Estudo realizado por Garcia *et al.* (2017) avaliou a diversidade microbiana de dois biorreatores fototróficos com diferentes meios suportes (anéis de polipropileno e *biobob*) utilizados para a remoção de sulfeto presente em efluente anaeróbio real. De acordo com os resultados obtidos neste estudo, as comunidades microbianas presentes nos reatores apresentaram baixa similaridade, indicando a ocorrência de distintas comunidades bacterianas em cada reator. A comparação entre os dois biorreatores avaliados permitiu concluir que o reator preenchido com anéis de polipropileno proporcionou maior desenvolvimento de bactérias sulfurosas. No que diz respeito aos efeitos dos diferentes TDH testados, diversidades microbiana similar ao longo do monitoramento foi observada em cada reator, indicando não haver influência do TDH sobre a comunidade bacteriana.

Buscando avaliar a influência de diferentes condições operacionais e do efeito da adoção de meio suporte no que se refere à estrutura da comunidade bacteriana e dar continuidade ao estudo realizado por Garcia *et al.*, 2017, neste capítulo são apresentadas as análises microscópicas e de biologia molecular.

6.2 Material e métodos

A metodologia desta pesquisa é apresentada no capítulo 4. Aspectos metodológicos adicionais referentes à caracterização da comunidade microbiana dos biorreatores são descritos neste item.

6.2.1 Aparato experimental e monitoramento

O aparato experimental constituiu-se por um reator UASB (340 L) seguido de dois reatores fototróficos idênticos transparentes em acrílico (30 L), exceto pela ausência (R1-controle) ou presença de meio suporte (R2-suporte). O monitoramento ocorreu ao longo de 7 meses, divididos em três etapas em função do tempo de detenção hidráulica testado: 6, 4 e 2 horas. Particularidades do aparato experimental e condições operacionais, são apresentadas no item 4.1.

Visando caracterizar a diversidade microbiana presente na biomassa e lodo dos reatores foi realizada a extração do DNA presente nas amostras, seguida pela técnica PCR-DGGE. As amostras foram coletadas ao término de cada fase, possibilitando assim a comparação da diversidade bacteriana nas diferentes fases de estudo e investigação do efeito do TDH sobre a diversidade de microbiana. Ademais, realizou-se a observação microscópica da biomassa

(escuma: R1-controle e aderida: R2-suporte) dos biorreatores a fim de investigar as morfologias presentes nos mesmos.

6.2.2 Caracterização morfológica dos microrganismos presentes nos reatores

Amostras de biofilme e escuma (no caso do R1-controle) foram analisadas por microscopia óptica comum em microscópio binocular (*Olympus*, modelo BX-50, com câmara *Olympus* DP70) a fim de observar as morfologias predominantes.

6.2.3 Extração de DNA

Em campo, no final de cada fase foram coletadas amostras de escuma, lodo e de biomassa do reator preenchido com anéis plásticos. Em laboratório, as amostras foram centrifugadas à 4000 rpm por 10 minutos e em seguida o sobrenadante foi descartado. As amostras foram centrifugadas três vezes com tampão fosfato-salino (PBS 1x, NaCl, Na₂HPO₄, NaH₂PO₄, pH = 7,2-7,4) e em seguida foram pesadas e mantidas a -20°C. A extração de DNA genômico foi realizada utilizando 0,5 g de cada amostra utilizando o kit de extração *PowerSoil DNA Isolation Kit* (MO BIO Laboratories, E.U.A.) de acordo com o protocolo estabelecido pelo fabricante. O resultado da extração de DNA foi confirmado a partir da realização de eletroforese em gel de agarose 1% durante 30 minutos a 75 volts. O DNA foi quantificado em espectrofotômetro *Nanodrop 1000* (*Thermo Scientific*).

6.2.4 Reação em cadeia da DNA polimerase (PCR) e Eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE)

Após a extração do DNA total da comunidade microbiana, presente nas amostras dos reatores, o gene RNAr 16S foi amplificado por meio da técnica de PCR, a partir iniciadores 1055F e 1392R relativo à amplificação da região V8 do gene da subunidade 16S do RNA ribossomal dos microrganismos do Domínio *Bacteria* (baseado no RNAr 16S de *Escherichia coli*). A fim de facilitar a separação das bandas durante a eletroforese, um grampo GC foi adicionado ao iniciador 1392R. As especificações do par de iniciadores adotado são exibidas na Tabela 6.1.

Tabela 6.1 - Características do par de iniciadores usado na PCR-DGGE.

Par de Iniciadores	Sequência (5'→3')	Tamanho do fragmento (pb)	Referência
1055F	ATGGCTGTCGTCAGCT	337	Ferris <i>et al.</i> , (1996)
1392R-GC	[GC]*ACGGGCGGTGTGTAC		

[Sequência grampo GC]* = CGC CCG CCG CGC CCC GCG CCC GGC CCG CCG CCC CCG CCC

A Tabela 6.2 apresenta os reagentes bem como suas concentrações e volumes necessários para uma reação de PCR com volume total de 50 µL. Uma amostra sem DNA foi adotada como controle negativo, contendo apenas reagentes relativos à reação da PCR. As condições de cada etapa do processo de amplificação são descritas na Tabela 6.3.

Tabela 6.2 - Especificações dos reagentes utilizados na reação da PCR.

Reagente	Solução	Concentração por reação	Volume (µl)
H ₂ O Ultrapura	-	-	18
Bovine Serum Albumin (BSA)	5 µg. µl ⁻¹	0,3 ng. µl ⁻¹	3
Iniciador 1	25pmol.µl ⁻¹	250 nM	0,5
Iniciador 2	25pmol.µl ⁻¹	250 nM	0,5
Pré-mix*	2x	1x	25
Amostra de DNA	variável	variável	3
Volume total	-	-	50

*contém os reagentes básicos para a reação da PCR

Tabela 6.3 - Etapas e características do programa utilizado no termociclador para as reações de amplificação do gene RNAr 16S com os iniciadores 1055F-1392R.

Etapa	Temperatura (°C)	Duração (min)	
Desnaturação inicial	94	4	
Desnaturação	94	1	} x 35 ciclos
Anelamento	56	1	
Extensão	72	1	
Extensão final	72	10	

Em seguida, os produtos amplificados resultantes da reação PCR foram separados pela técnica de Eletroforese em Gel por Gradiente Desnaturante (DGGE), método que consiste na separação de fragmentos iguais de DNA que possuem o mesmo tamanho porém diferem em relação à sequência de nucleotídeos. A separação dos fragmentos ocorre a partir da mobilidade eletroforética de uma molécula de DNA parcialmente desnaturada em gel de poliácridamida com agentes desnaturantes (uréia e formamida). Fragmentos com sequências diferentes irão migrar até diferentes posições no gel, promovendo assim a separação. O gel DGGE, preparado a partir de soluções estoques com 0% e 100% de ureia e formamida, era constituído por 8% de

poliacrilamida e gradiente desnaturante de 50 a 65%. O DGGE foi realizado nas seguintes condições: temperatura de 60°C, 80 V, durante 16,5 horas no tampão TAE 0,5X (TAE 1X: 0,04 M Tris base; 0,02 M Acetato de sódio; 10 mM EDTA);

A polimerização do gel foi realizada a partir das soluções de persulfato de amônio (APS) 10% (volume/volume) e tetrametiletilenodiamina (TEMED) 0,1% (volume/volume) e o sistema *DCode* (BioRad Universal Mutation Detection, Hercules, CA, USA) foi usado para a realização da eletroforese (DGGE).

Em seguida, o gel foi corado com *SybrGold* (Life Technologies) por 35 minutos e visualizado sob transluminador Led (Nipon). As bandas observadas foram excisadas e transferidas para microtubos contendo 50 µL de TE (Tris 10mM e EDTA 1mM, pH 8,0) e conservadas a 4 °C para permitir a eluição do DNA na fase líquida. O DNA eluído foi novamente amplificado com os iniciadores 1055F/1392R, nas mesmas condições da primeira reação exceto pela ausência do grampo GC. Os produtos da PCR, purificados com etanol, foram sequenciados usando o serviço genômica da Macrogen Inc. (Coréia do Sul). As sequências foram comparadas com as presentes nas bases de dados do *Ribosomal Database Project* através do *RDP Classifier* (<https://rdp.cme.msu.edu/classifier/classifier.jsp>), com um nível de confiança de 80% (WANG *et al.*, 2007) e do NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), através do *Blastn* (ALTSCHUL *et al.*, 1990).

A similaridade entre as bandas resultantes da análise de DGGE foi analisada usando o software *BioNumerics* 6.6. O índice de *Shannon* (H) foi calculado a fim de avaliar a diversidade bacteriana das amostras dos reatores (lodo e biomassa), nas diferentes fases operacionais, levando em consideração a intensidade das bandas individuais (n_i) e a soma da intensidade de todas as bandas (N), conforme a equação 7.1 (GAFAN *et al.*, 2005). Amostras com índice de *Shannon* superiores são associadas à maior diversidade bacteriana.

$$H = - \sum \left[\frac{n_i}{N} \log \left(\frac{n_i}{N} \right) \right] \quad (7.1)$$

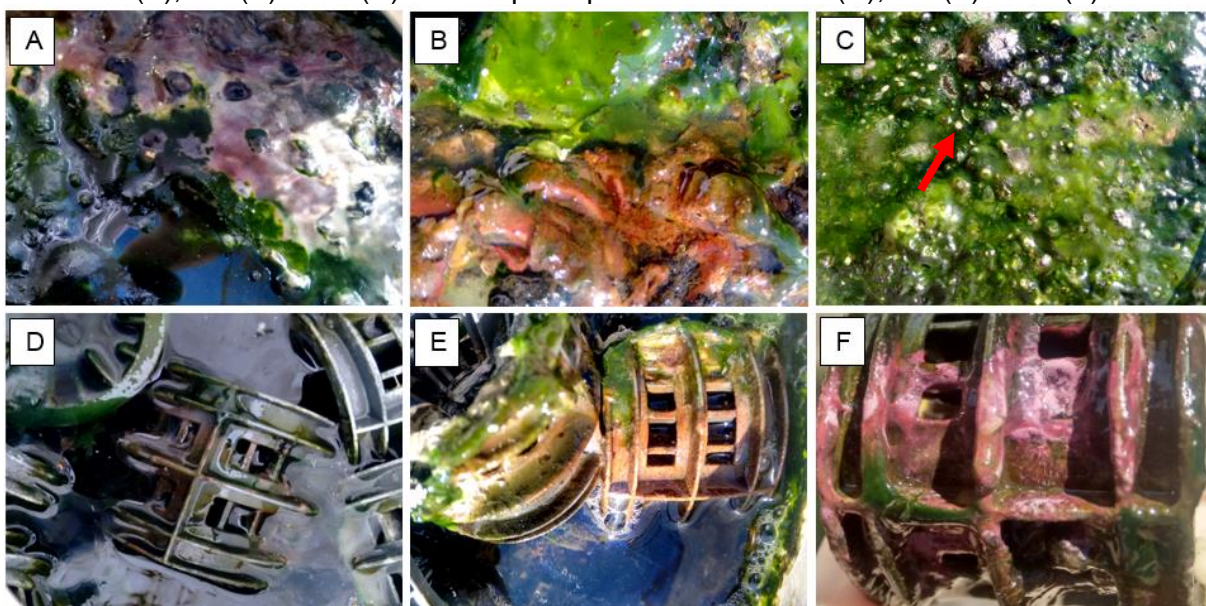
6.3 Resultados e discussão

6.3.1 Análise por microscopia óptica dos microrganismos presentes nos biorreatores

A coloração da biomassa dos biorreatores foi observada ao longo do período monitorado. Nas três fases notou-se a predominância da coloração verde e púrpura nos biorreatores, conforme

ilustrado na Figura 6.1. A visualização das cores citadas possivelmente esteve relacionada à ocorrência de sulfobactérias de mesma cor. Durante o monitoramento observou-se que o R1-controle apresentou coloração verde mais intensa enquanto o R2-suporte exibiu variações de cores púrpuras ao longo do monitoramento. Tal fato, avaliado juntamente com a menor penetração de luz solar devido à presença de meio suporte, permite supor que a coloração púrpura relaciona-se com a ocorrência de sulfobactérias púrpuras, gênero com menor requisito de luminosidade se comparado às bactérias verdes (MADIGAN, 2010).

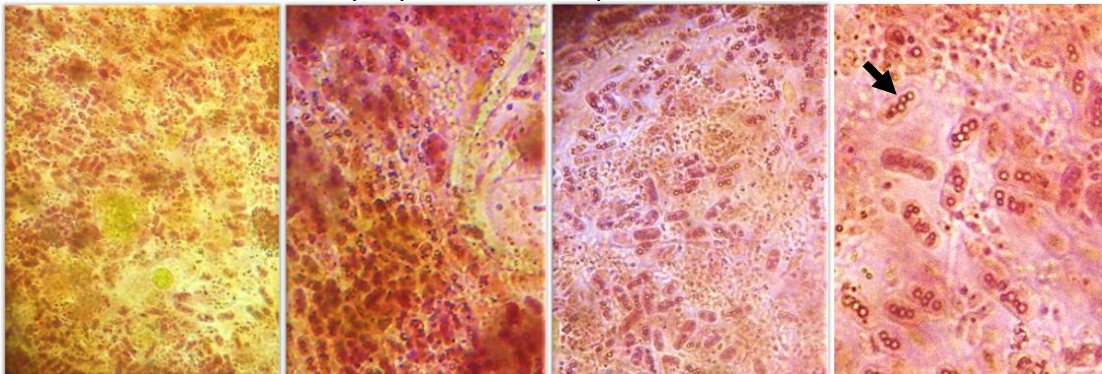
Figura 6.1 - Biomassa presente na parte superior dos reatores R1-controle para o TDH de 6 h (A), 4 h (B) e 2 h (C) e R2-suporte para o TDH de 6 h (D), 4 h (E) e 2 h (F).



A coloração branca em meio à biomassa verde do R1-controle, em destaque na Figura 6.1 (C), sugere a ocorrência de oxidação parcial de sulfeto a enxofre elementar, uma vez que sulfobactérias verdes, ao contrário das púrpuras, produzem enxofre elementar extracelular (MADIGAN, 2010).

Visando identificar a morfologia das bactérias presentes nos reatores, a biomassa foi analisada por microscopia óptica. Assim como perceptível na parte superior e lateral dos reatores, a análise microscópica possibilitou a visualização da morfologia de bactérias verdes e púrpuras. A Figura 6.2 exhibe as morfologias observadas na biomassa do R2-suporte para o TDH de 4 horas. O enxofre elementar produzido intracelularmente pôde ser observado por microscopia e encontra-se em destaque na Figura 6.2.

Figura 6.2 - Imagens microscópicas das bactérias púrpuras presentes na biomassa do R2-suporte na Fase II, com destaque para o enxofre produzido e armazenado intracelularmente.



6.3.2 Análise do perfil de bandas de DNA da comunidade bacteriana de cada reator a partir do DGGE

A composição da comunidade bacteriana desenvolvida na espuma e no lodo dos reatores fototróficos sob diferentes TDH foi avaliada ao término de cada fase a partir da análise de DGGE, com perfil exibido na Figura 6.3. A extração de DNA da amostra de biomassa do R2-suporte (TDH = 4 h) não foi bem sucedida, sendo assim a mesma não foi considerada nas etapas subsequentes. As bandas identificadas a partir do gel de DGGE são apresentadas na Tabela 6.4.

Figura 6.3 - Perfil do gel de DGGE contendo fragmentos de DNA r 16S amplificados com iniciadores universais para bactérias em geral (1055F/1392R-GC).

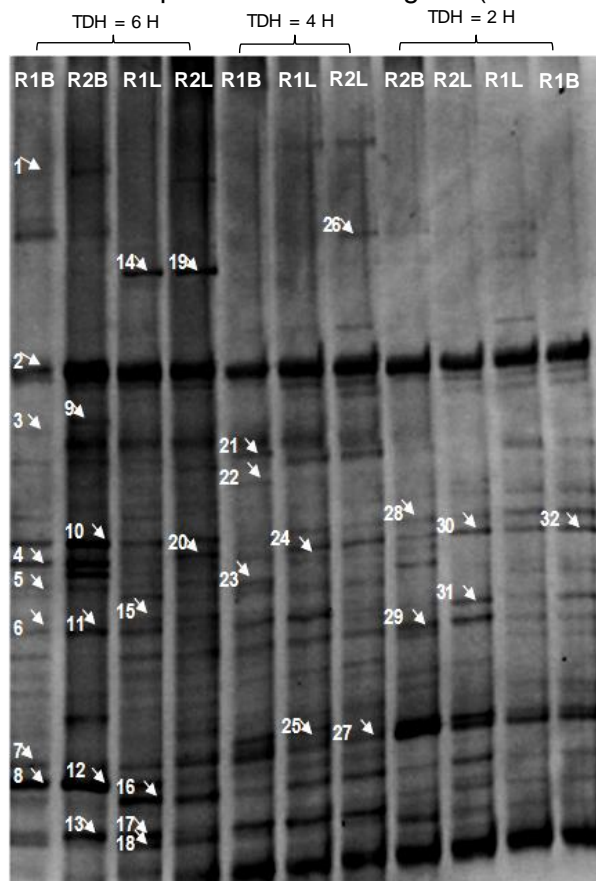


Tabela 6.4 - Identificação das bandas de DGGE a partir do *RDP Classifier* e *Blastn*.

Banda	<i>RDP Classifier</i>	<i>Blastn</i>	Similaridade ¹ (%)	Nº de Acesso
1	Campylobacterales	Sulfurimonas sp.	89	NR_074451.1
2	Cyanobacteria	Spirulina sp.	89	NR_125712.1
3	Oscillatoriophyceae	Moorea sp.	82	NR_116539.1
4	Rhodocyclus sp.	Rhodocyclus tenuis	98	NR_025839.1
5	Sulfuricellales	Sulfuricella sp.	90	NR_121695.1
6	Oscillatoriales	Planktothrix mougeotii	97	NR_112129.1
7	Rhodopseudomonas sp.	Rhodopseudomonas sp.	94	NR_024971.1
8	Chroococcales	Microcystis sp.	92	NR_074314.1
9	Flavobacteriaceae	Chryseobacterium sp.	95	NR_113951.1
10	Pseudanabaenaceae	Limnothrix sp.	97	KF246506.1
11	Oscillatoriales	Planktothrix mougeotii	98	NR_112129.1
12	Chroococcales	Microcystis sp.	92	NR_074314.1
13	Pseudanabaenaceae	Limnothrix planktonica	99	KP726241.1
14	Cyanobacteria	Cyanobacteria não cultivável	91	HQ044431.1
15	Oscillatoriales	Planktothrix mougeotii	98	NR_112129.1
16	Comamonadaceae	Diaphorobacter polyhydroxybutyrativorans	98	NR_137222.1
17	Pseudanabaenaceae	Limnothrix planktonica	99	KP726241.1
18	Chromatiales	Thiocapsa sp.	90	NR_115810.1
19	Cyanobacteria	Cyanobacteria não cultivável	91	HQ044431.1
20	Anaerolineaceae	Anaerolinea sp.	90	NR_074383.1
21	Chlorobaculum sp.	Chlorobaculum sp.	95	NR_104865.1
22	Flavobacteriaceae	Chryseobacterium sp.	96	NR_116343.1
23	Neisseriales	Chromobacterium sp.	91	NR_136426.1
24	Anaerolineaceae	Anaerolinea sp.	90	NR_074383.1
25	Rhodopseudomonas	Rhodopseudomonas thermotolerans	98	NR_108528.1
26	Cyanobacteria	Cyanobacteria não cultivável	99	HQ041600.1
27	Syntrophobacteriales	Syntrophorhabdaceae não cultivável	92	JX505362.1
28	Bradyrhizobiaceae	Rhodopseudomonas sp.	94	KX944463.1
29	Rhodopseudomonas	Rhodopseudomonas palustris	97	NR_112912.1
30	Anaerolineaceae	Anaerolinea sp.	90	NR_074383.1
31	Gulbenkiania sp.	Gulbenkiania mobilis	99	NR_042548.1
32	Anaerolineaceae	Anaerolinea sp.	90	NR_074383.1

* As porcentagens representam similaridade entre as sequências das bandas do DGGE com as sequências mais próximas no *GenBank*. As bandas destacadas em negrito são referentes às sequências relativas a bactérias sulfurosas.

A partir da análise de sequenciamento das bandas excisadas, foram verificados diversos gêneros bacterianos, incluindo gêneros não relacionados ao ciclo do enxofre, como por exemplo os gêneros *Gulbenkiania* e *Anaerolinea*. A banda 31 (lodo do R2-suporte para o TDH 2 h) apresentou significativa similaridade com a sequência de DNA da bactéria *Gulbenkiania mobilis*. Espécie aeróbia quimioheterotrófica, foi isolada de amostra advinda do tratamento de águas residuárias. Segundo Vaz-Moreira *et al.* (2007), essa espécie se desenvolve na presença de nitrato.

Sequências de DNA similares à família *Anaerolineaceae* (possivelmente gênero *Anaerolinea*) foram identificadas a partir das bandas 20, 24, 30 e 31, relativas às amostras de lodo R2-suporte (6h), lodo R1-controle (4h) e lodo R2-suporte (2h). Este gênero é pertencente ao filo *Chloroflexi*, constituído de bactérias verdes não sulfurosas, filamentosas, anaeróbias, heterotróficas, hidrolíticas fermentativas e termofílicas. Embora identificado em vários ambientes, incluindo tratamento biológico de águas residuárias, o filo *Chloroflexi*, incluindo bactérias com metabolismos diversos, é ainda relativamente pouco estudado (BJORNSSON *et al.*, 2002; MADIGAN, 2010; HUG *et al.*, 2013)

A família *Syntrophorhabdaceae*, encontrada sob diversas condições ambientais, foi identificada na banda 27, relativa à amostra de lodo do R2-suporte no TDH de 4 horas. Gêneros pertencentes à essa família identificada, como o gênero *Syntrophabcter*, utilizam o sulfato como substrato, sendo relacionadas à redução do mesmo (MCINERNEY *et al.*, 2008). A presença de bactérias redutoras de sulfato não cultiváveis é relacionada à utilização de efluente de reator UASB.

Bactérias púrpuras não sulfurosas dos gêneros *Rhodopseudomonas* e *Rhodocyclus* foram identificadas nas bandas 4, 7, 25, 28, referentes às amostras de biomassa do R1-controle (TDH = 6h) e R2-suporte (TDH = 2h) e lodo do R1-controle (TDH = 4h). A espécie *Rhodopseudomonas palustris*, identificada na banda 29 relativa à amostra de biomassa do R2-suporte (TDH = 2 h), é uma bactéria fototrófica com metabolismo versátil. Possui habilidade de degradar compostos orgânicos sob condições aeróbias e anaeróbia e de obter energia a partir de diversos compostos orgânicos (MADIGAN, 2010).

A partir do perfil do gel de DGGE é possível observar que a comunidade bacteriana presente nos biorreatores ao longo das fases operacionais foi diversificada. A banda 2, bem demarcada em todas as amostras em questão, foi identificada como pertencente ao gênero *Spirulina*, relacionado à cianobactérias filamentosas. Cianobactérias e bactérias fototróficas sulfurosas podem coexistir, devido ao grau de tolerância de oxigênio das sulfobactérias (STAL, 1995). Sequências relativas a diferentes famílias e gêneros de cianobactérias, cultivadas ou não, foram identificadas nas bandas: 2, 3, 6, 8, 10, 11, 12, 13,14, 15, 17, 19 e 26. Algumas das bandas citadas, apresentaram sequências relacionadas às sequências de cianobactérias identificadas como produtoras de toxinas, tais como cianobactérias dos gêneros *Limnothrix sp.* e *Microcystis sp.* (FURTADO, *et al.*, 2009; SOMDEE *et al.*, 2013).

Segundo Friedrich (1998), cianobactérias filamentosas da espécie *Oscillatoria limnetica* são capazes de realizar fotossíntese anoxigênica utilizando sulfeto de hidrogênio como doador de elétrons para formação de enxofre elementar (COHEN *et al.*, 1975; FRIEDRICH, 1998). Sendo assim, tais cianobactérias são adaptáveis a ambientes aeróbios ou anaeróbios em condições de baixo potencial redox e presença de sulfeto (GARLICK *et al.*, 1977). Embora sequências da espécie *Oscillatoria limnetica* não tenham sido identificadas, a ordem *Oscillatoriales* foi identificada em diversas bandas, sendo possível a ocorrência de espécies capazes de oxidar sulfeto via fotossíntese anoxigênica.

Em relação às bactérias sulfurosas, os gêneros *Thiocapsa*, *Chlorobaculum*, *Sulfurimonas* e *Sulfuricella* foram identificados nas bandas 18, 1 e 5, referentes às amostras de lodo e biofilme do R1-controle (TDH = 6 h).

Sulfobactérias púrpuras pertencentes ao gênero *Thiocapsa* realizam fotossíntese anoxigênica, por meio da utilização de sulfeto de hidrogênio como doador de elétrons para a formação de enxofre elementar, neste caso intracelular. Embora a banda 18 tenha sido identificada apenas para uma amostra de lodo do R1-controle, a partir da altura da banda no perfil do DGGE, provavelmente a sulfobactéria *Thiocapsa* também ocorreu para as amostras de as amostras de lodo do R2-suporte (TDH = 6 h), biomassa do R1-controle (TDH = 4 h), lodo R1-controle (TDH = 4 h) e lodo R2-suporte (TDH = 4 h). A partir da Figura 6.2, observou-se a presença de bactérias púrpuras e de enxofre intracelular na biomassa do R2-suporte na fase 2, de modo a corroborar a suposição da ocorrência de sulfobactérias púrpuras em amostras além da identificada na Tabela 6.4.

Na amostra do R1-controle para condições de TDH de 4 horas identificou-se na banda 21, o gênero de bactérias sulfurosas verdes, *Chlorobaculum*. Assim como sulfobactérias pertencentes ao gênero *Chlorobium*, as bactérias pertencentes ao gênero *Chlorobaculum*, possuem características tais como: morfologia reta ou curva, ausência de motilidade e cor verde ou marrom. A principal vantagem inerente às bactérias verdes está relacionada à produção de enxofre elementar extracelular (MADIGAN, 2010). Embora o gênero *Chlorobaculum* tenha sido identificado especificamente para uma amostra do R1-controle, a presença de enxofre elementar extracelular no efluente de ambos biorreatores foi verificada ao longo das três fases monitoradas.

As seqüências das bandas 1 e 5, relativas à amostra de biomassa do R1- controle (TDH = 6h), foram classificadas como bactérias sulfurosas quimiolitotróficas pertencentes às famílias *Campylobacterales* e *Sulfuricellales*, respectivamente, possivelmente dos gêneros *Sulfurimonas* e *Sulfuricella*. Embora não tenham sido sequenciadas, a partir do perfil do DGGE das amostras de lodo do R1-controle e R2-suporte e de biomassa do R2-suporte sob condições (6 horas de TDH), bandas da mesma altura foram observadas, possivelmente relacionadas à mesma seqüência de DNA da banda 5 (MADIGAN, 2010; WATANABE *et al.*, 2015).

Ainda que não tenha sido realizada a excisão de todas as bandas apresentadas no gel de DGGE, foi verificada a ocorrência de bactérias sulfurosas fototróficas verdes (*Chlorobaculum*) e púrpuras (*Thiocapsa*) no reator fototrófico R1-controle. Uma vez que as amostras avaliadas apresentaram bandas similares na mesma altura do gel, condições operacionais similares (carga de sulfeto aplicada e presença de luminosidade) e ocorrência de enxofre na biomassa, lodo e efluente dos biorreatores, supõe-se que bactérias sulfurosas fototróficas ocorreram nas três fases do estudo.

A diversidade microbiana em cada fase desta pesquisa para as amostras de lodo e biomassa dos reatores R1-controle e R2- suporte são apresentadas na Tabela 6.5. Sequências relacionadas a bactérias púrpuras e verdes, em destaque na Tabela 6.5, foram identificadas para os três TDH testados, nos reatores R1-controle (TDH de 6 e 4 horas) e no R2-suporte (TDH de 2 horas). Embora seqüências relativas a bactérias sulfurosas não tenham sido identificadas em todas as fases para ambos reatores, vale ressaltar que não foi realizado o sequenciamento de todas as bandas identificadas no perfil de DGGE e que, devido à diversidade observada na Figura 6.3 para as três fases avaliadas, é possível supor que bactérias sulfurosas ocorreram ao longo do período monitorado para ambos reatores fototróficos.

Estudos realizados por Diniz (2015) e Garcia *et al.* (2015), avaliaram a oxidação biológica de sulfeto em reatores fototróficos tratando efluente de reator UASB sob diferentes TDH (24 h, 12 h e 6 h). Assim como reportado por Diniz (2015) e Garcia *et al.* (2015), foram identificadas nesta pesquisa seqüências relacionadas ao filo *Chloroflex* e às espécies *Gulbenkiania mobilis*, *Rhodopseudomonas palustris* e *cianobactéria não cultivável*. Embora seqüências relativas a seqüência de cianobactérias não cultiváveis tenham sido identificadas por Diniz (2015) e Garcia *et al.* (2015), de 32 bandas (DINIZ, 2015) e 21 bandas (GARCIA *et al.*, 2015) avaliadas, apenas duas bandas em cada estudo apresentou seqüências relativas a cianobactérias. Nesta pesquisa, de 32 bandas avaliadas, 13 foram relacionadas à seqüências de cianobactérias pertencentes a

diversas famílias e gêneros. A maior ocorrência de cianobactérias pode estar relacionada aos TDH testados nesta pesquisa (6 h, 4 h e 2 h), inferiores aos adotados por Diniz (2015) e Garcia *et al.* (2015), 24 h, 12 h e 6 h. Ademais, os reatores foram operados continuamente por tempo superior, sendo possível que a menor ocorrência de cianobactérias esteja associada ao acúmulo de biomassa e consequente menor penetração de luz no interior dos biorreatores.

No que diz respeito às bactérias sulfurosas, os estudos citados identificaram sequências similares ao gênero das sulfobactérias verdes *Chlorobaculum sp.* Sob mesmas condições de TDH e meio suporte utilizado, apenas bactérias do gênero *Rhodopseudomonas* foram identificadas em ambos estudos. Assim como reportado por Diniz (2015), nesta pesquisa bactérias com diversas rotas metabólicas foram identificadas, devido ao afluente utilizado, oriundo de reator UASB e constituído por microrganismos de diversos metabolismos.

Tabela 6.5 - Diversidade microbiana nos reatores R1-controle e R2-suporte para as amostras de biomassa e lodo nas três fases monitoradas.

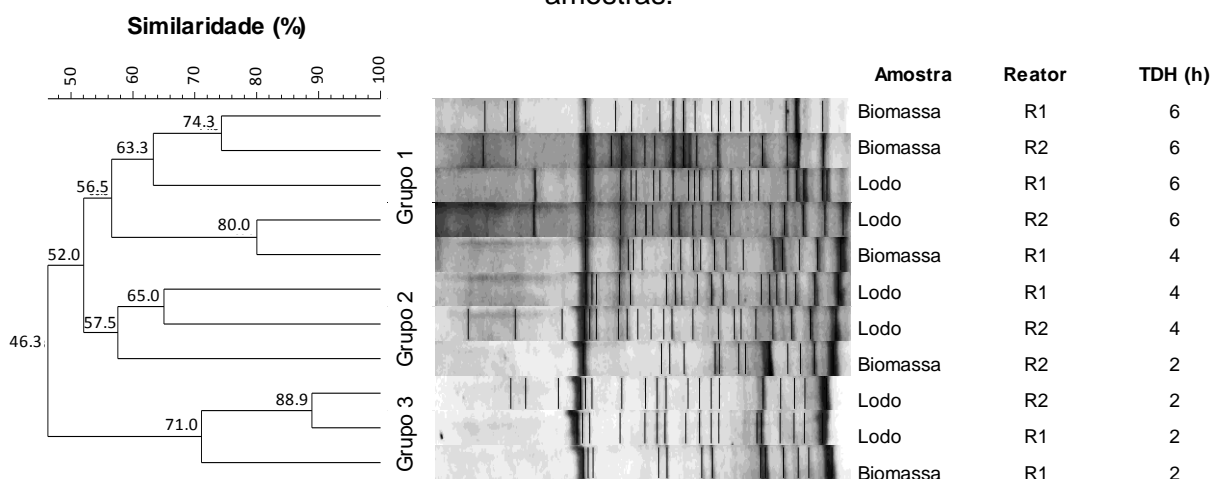
TDH	Amostra	R1-controle	R2-suporte
6 horas	Biomassa	Campobacterales (<i>Sulfurimonas sp.</i>)	<i>Flavobacteriaceae (Chryseobacterium sp.)</i> <i>Pseudanabaenaceae (Limnothrix sp.)</i> <i>Oscillatoriales (Planktotrix mougeotii)</i> <i>Chroococcales (Microcystis sp.)</i> <i>Pseudanabaenaceae (Limnothrix planktonika)</i>
		<i>Cyanobacteria (Spirulina sp.)</i>	
		<i>Oscillatoriophycideae (Moorea sp.)</i>	
		Rhodocyclus sp (<i>Rhodocyclus tenuis</i>)	
		Sulfuricellales (<i>Sulfuricella</i>)	
	Lodo	<i>Oscillatoriales (Planktotrix mougeotii)</i>	<i>Cyanobacteria (Cyanobacteria não cultivável)</i> <i>Anaerolineaceae (Anaerolinea sp.)</i>
		<i>Chroococcales (Microcystis sp.)</i>	
		<i>Cyanobacteria (Cyanobacteria não cultivável)</i>	
		<i>Comamonadaceae (Diaphorobacter polyhydroxybutyrvativorans)</i>	
		<i>Pseudanabaenaceae (Limnothrix planktonica)</i>	
		Chromatiales (<i>Thiocapsa sp.</i>)	
4 horas	Biomassa	<i>Chlorobaculum sp.</i>	-
		<i>Flavobacteriaceae (Chryseobacterium sp.)</i>	
	Lodo	Neisseriales (<i>Chromobacterium sp.</i>)	<i>Cyanobacteria (Cyanobacteria não cultivável)</i> <i>Syntrophobacterales (Syntrophorhabdaceae não cultivável)</i>
		<i>Anaerolineaceae (Anaerolinea sp.)</i>	
		<i>Rhodopseudomonas (Rhodopseudomonas thermotolerans)</i>	
2 horas	Biomassa	<i>Anaerolineaceae (Anaerolinea sp.)</i>	<i>Bradyrhizobiaceae (Rhodopseudomonas sp.)</i> <i>Rhodopseudomonas (Rhodopseudomonas palustris)</i>
	Lodo	-	<i>Anaerolineaceae (Anaerolinea sp.)</i> <i>Gulbenkiania sp. (Gulbenkiania mobilis)</i>

*As bandas destacadas em negrito são referentes às sequências relativas a bactérias púrpuras e verdes.

6.3.3 Comparação dos perfis de DGGE obtidos para as amostras de biomassa e lodo dos reatores fototróficos

A diversidade microbiana da biomassa e lodo ao final de cada fase foi avaliada a partir da técnica PCR-DGGE. A comparação dos perfis de bandas de DNA obtidos pelo gel do DGGE, foi feita através do dendograma apresentado na Figura 6.4, que reporta os coeficientes de similaridade entre os perfis, gerado pelo software *BioNumerics*. O dendograma separa as amostras a partir de agrupamentos de amostras com características semelhantes, considerando a presença e ausência de bandas resultantes da técnica de DGGE. O coeficiente de similaridade gerado engloba o total de bandas presentes no DGGE e os perfis comuns às amostras analisadas. O dendograma inclui 11 amostras relativas ao lodo das três fases avaliadas e biomassa das fases 1 e 3. A extração do DNA da amostra de biomassa da fase 2 não foi bem sucedida e por isso a mesma não foi incluída nas técnicas de PCR e DGGE.

Figura 6.4 - Dendograma gerado a partir dos perfis das bandas do gel de DGGE. Os valores presentes na ramificação do dendograma são referentes à similaridade entre as amostras.



A partir da análise de agrupamento dos perfis do DGGE (Figura 6.4) três grupos distintos foram identificados em função dos TDH testados. Os grupos apresentaram similaridade entre 57% e 71%, indicando a alteração da estrutura da comunidade microbiana, distinta para cada um dos TDH. A comparação entre os três grupos observados no dendograma resultou em 46% de similaridade, inferior à obtida para as amostras relativas aos TDH de 6 horas e 4 horas, 52%.

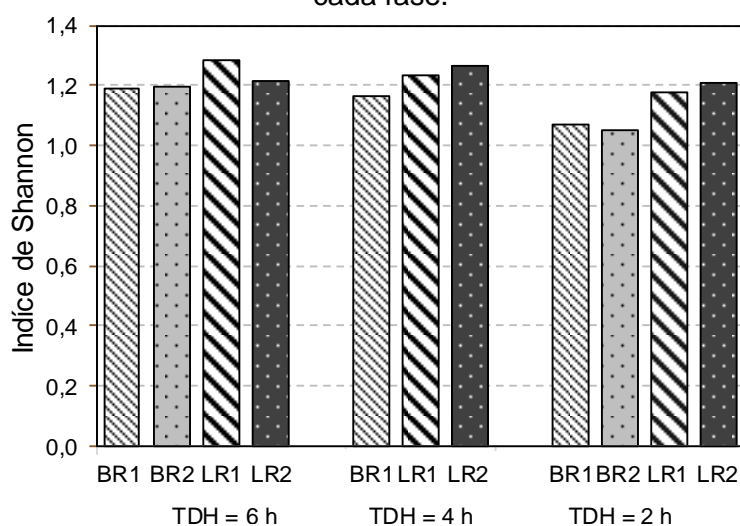
Exceto para o TDH de 6 horas, para o qual os perfis da biomassa microbiana dos reatores R1-controle e R2-suporte apresentaram 74,3% de similaridade, para os demais TDH avaliados (4 horas e 2 horas) os reatores apresentaram perfis distintos para a biomassa microbiana. Para o

TDH de 2 horas, a menor similaridade entre a biomassa dos reatores foi observada, 46%. No que diz respeito à composição bacteriana do lodo, os perfis observados para os reatores R1-controle e R2-suporte apresentaram menores similaridades para os TDH de 6 horas e 4 horas, 57% e 65%, respectivamente. As amostras de lodo dos reatores sob condições de TDH de 2 horas, apresentaram a maior similaridade observada no dendograma, 89%. A diferença entre os perfis dos reatores sugere que a presença de meio suporte no R2-suporte e ausência no R1-controle influenciou a comunidade bacteriana do lodo bem como da biomassa.

No que se refere à similaridade entre as amostras de biomassa e lodo de cada reator para o mesmo TDH, as amostras de lodo e biomassa do R1-controle apresentaram similaridade entre 52% e 71%, ao passo que as amostras do R2-suporte apresentaram menor similaridade, entre 46% e 57%. Dentre os valores observados para lodo e a biomassa dos reatores, a menor similaridade foi observada para o R2-suporte (46%) sob condições de 2 horas de TDH, indicando que a presença do meio suporte proporcionou composições bacterianas mais distintas entre o lodo e a biomassa do R2-suporte para o menor TDH testado.

A similaridade entre as amostras determinada pelo dendograma foi confirmada a partir do Índice de Shannon, relativo à diversidade entre comunidades microbianas. Os valores determinados para o Índice de *Shannon*, apresentados na Figura 6.5 variaram entre 1,05 e 1,29.

Figura 6.5 - Índice de *Shannon* relativo às amostras de biomassa e lodo coletadas ao fim de cada fase.



Ao observar os valores obtidos para o Índice de *Shannon*, percebe-se que a redução do TDH não afetou expressivamente a diversidade microbiológica das amostras em questão. Ao comparar os valores obtidos para o lodo dos biorreatores nas três fases, 1,18 a 1,29, nota-se que

os mesmos foram superiores aos índices relativos às amostras de biomassa, que variaram entre 1,05 e 1,20. Apesar de próximos, os valores relativos ao Índices de Shannon decresceram com a redução do TDH, de modo que, tanto a biomassa como o lodo apresentaram maior diversidade microbiana na fase inicial para o TDH de 6 horas, com exceção do índice obtido para a mostra de lodo do R2-suporte, superior sob condições de 4 horas de TDH.

6.4 Conclusões

A diversidade microbiana da biomassa e lodo de biorreatores fototróficos tratando efluente anaeróbio real sob condições de presença/ausência de meio suporte e de diferentes TDH testados foi avaliada neste capítulo. A partir dos resultados apresentados, é possível concluir:

- A ocorrência de bactérias sulfurosas verdes e púrpuras foi verificada a partir de análises de biologia molecular, indicando a presença de bandas de DNA similares aos gêneros *Chlorobaculum* e *Thiocapsa*. Embora a identificação não tenha sido realizada em todas as amostras avaliadas, a partir da presença de condições ambientais, carga de sulfeto aplicada similares e formação de enxofre elementar em ambos biorreatores, supõe-se que bactérias sulfurosas fototróficas ocorreram nas fases avaliadas.
- Foram identificadas sequências de DNA relativas a bactérias não sulfurosas, como *Cyanobacteria*, *Anaerolineaceae* e *Rhodopseudomonas*, indicando a coexistência de microrganismos com distintos metabolismos, como exemplo microrganismos associados à hidrólise e fermentação da matéria orgânica remanescente presente no efluente do reator UASB.
- Observou-se que a presença de meio suporte no R2-suporte e ausência no R1-controle influenciou a comunidade bacteriana do lodo e da biomassa. Em relação às amostras de biomassa e de lodo para cada reator, a presença do meio suporte proporcionou composição bacteriana mais distinta para o menor TDH testado (2 horas).
- A partir dos valores obtidos para o Índice de Shannon, notou-se que a redução de TDH não afetou expressivamente a diversidade microbiana dos reatores. Todavia, os valores relativos ao Índice de Shannon foram ligeiramente superiores sob condições de maior TDH, 6 horas, sendo possível observar o efeito cinético na diversidade microbiana dos reatores.

7 INFLUÊNCIA DE CONDIÇÕES OPERACIONAIS NO DESEMPENHO DE UM REATOR DE OXIDAÇÃO DE SULFETO SOB CONDIÇÕES DE ALTA CARGA

7.1 Introdução

Métodos biológicos para a remoção de sulfeto hidrogênio tem sido desenvolvidos como alternativa às tecnologias físico-químicas, devido às vantagens associadas: baixo custo, segurança e simplicidade operacional (JANSSEN *et al.*, 2009). Diversos organismos são capazes de oxidar e reduzir espécies sulfurosas, incluindo a oxidação de compostos reduzidos de enxofre a enxofre elementar, passíveis de ocorrer sob condições aeróbias ou anaeróbias (ELKANZI, 2009).

Bactérias incolores, assim denominadas para distinção das púrpuras e verdes, utilizam o sulfeto de hidrogênio como doador de elétrons para formação de enxofre elementar e sulfato. Dentre os gêneros de sulfobactérias, especial interesse é atribuído ao gênero *Thiobacillus*, devido à formação de enxofre elementar extracelular e recuperação facilitada se comparada a gêneros que produzem o composto de modo intracelular (MADIGAN, 2010).

O THIOPAQ®, sistema biotecnológico que visa a oxidação de sulfeto de hidrogênio, promove a absorção do sulfeto de hidrogênio na forma gasosa em um meio alcalino seguido de oxidação biológica realizada por bactérias sulfurosas incolores que ocorrem naturalmente no meio, denominadas *Thiobacilli* (CLINE *et al.*, 2003). Tal processo foi desenvolvido em parceria pela *Shell Global Solutions* e *Paques B.V.*, a fim de possibilitar a oxidação parcial de sulfeto presente em correntes gasosas a enxofre elementar (MOKHATAB *et al.*, 2006) e é aplicado em diversas tipologias industriais - papel e celulose, química e de mineração - visando a oxidação de sulfeto e recuperação de enxofre elementar formado (CLINE *et al.*, 2003).

A diversidade de sulfobactérias é fortemente influenciada por condições ambientais, tais como pH, luminosidade, matéria orgânica, temperatura, aceptores de elétrons, potencial redox e espécies sulfurosas presentes no meio (ELSHAHEED *et al.*, 2003). Nesse sentido, a determinação de condições ambientais ótimas propícias à atividade biológica é primordial para assegurar o funcionamento adequado de um sistema biológico. O objetivo desse capítulo é investigar a relação entre condições operacionais no desempenho de um reator de oxidação de sulfeto, reator THIOPAQ® em escala laboratorial, a partir da estabilização do reator.

7.2 Material e métodos

Neste item são abordados os aspectos metodológicos utilizados para alcance do objetivo do presente capítulo. Informações relacionadas à metodologia geral da pesquisa foram apresentadas no capítulo 4.

7.2.1 Aparato experimental

O aparato experimental desta etapa consistiu em uma coluna de absorção de gases seguida de um reator biológico ($V = 3,5$ L) e de um decantador ($V = 1,0$ L). O reator operou com uma linha de recirculação com fluxo de $8 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ ajustado por meio de bomba peristáltica. Parâmetros como pH, potencial redox (ORP) e temperatura foram monitorados no interior do reator a partir de sensores (Endress+Hauser CPS11D, CPS12D – Eletrodo de referência Ag/AgCl). A partir da temperatura no interior do reator e de dados fornecidos pelo fabricante, os valores de ORP foram corrigidos para o eletrodo padrão de hidrogênio. A temperatura do reator foi mantida constante entre 36 e 37 °C. O desenho esquemático do aparato experimental e demais aspectos metodológicos relacionados são descritos no item 4.2.

7.2.2 Composição do meio e inóculo

O reator foi inoculado utilizando 500 mL de biomassa ($980 \text{ mgSSV}\cdot\text{L}^{-1}$) oriunda da planta de desulfurização instalada na *Industriewater Eerbeek B. V.*, Países Baixos. O volume útil do reator foi preenchido a partir da adição de 3 L de solução de bicarbonato de sódio $0,6$ M. Inicialmente, a carga de sulfeto aplicada foi $900 \text{ gS}^2\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$, equivalente a 15% da capacidade do reator, elevada gradativamente até alcançar a capacidade total, $5900 \text{ gS}^2\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$. Os experimentos foram realizados entre outubro/2016 e janeiro/2017 no *Water Application Centre* (WAC), em Leeuwarden, Países Baixos.

7.2.3 Operação do reator THIOPAQ®

Diversos parâmetros foram monitorados visando o alcance de condições favoráveis à ocorrência de atividade biológica e, conseqüentemente, maior conversão de sulfeto de hidrogênio a enxofre elementar. Os parâmetros monitorados e valores recomendados são apresentados na Tabela 7.1.

Após realizar a inoculação do reator, soluções de nutrientes e cáustica eram bombeadas a cada hora. A vazão da solução de nutrientes, $3,8 \text{ mL}\cdot\text{h}^{-1}$, foi mantida inalterada ao longo do monitoramento e a concentração da solução de nutrientes, fator limitante ao crescimento

bacteriano, foi ajustada visando manter a concentração de biomassa no interior do reator entre 500-1000 mgSSV.L⁻¹, correspondente a 50-100 mgN.L⁻¹ de nitrogênio total. Elevou-se gradativamente a carga de sulfeto aplicada de acordo com a atividade biológica do reator. A relação entre intensidade de aeração aplicada no reator e a carga de sulfeto aplicada era controlada indiretamente pelo ORP. Caso aeração excessiva fosse requerida para manter o ORP estável (próximo a -132 mV) sob condições de maior carga de sulfeto aplicada, a carga de sulfeto era mantida inalterada e a concentração de nutrientes, elevada.

Adicionalmente, a concentração de hidróxido de sódio presente na solução cáustica e a vazão dosada, foram ajustadas buscando controlar o TDH próximo ao valor recomendado. A solução cáustica era dosada a fim de manter a alcalinidade próxima a 0,6 M NaHCO₃. O controle do pH no interior do reator, entre 8,5 e 9,0, era realizado a partir da dosagem de dióxido de carbono na coluna de absorção de gás quando valores acima do recomendado eram observados.

Tabela 7.1 - Condições operacionais recomendadas para o reator THIOPAQ®.

Parâmetros	Valores recomendados
ORP	-330 mV (Ag/AgCl)/ -132 mV (E ⁰ h)
Carga de S ²⁻	5900 gS ²⁻ .m ⁻³ .d ⁻¹
pH	8,5-9,0
Alcalinidade	0,6 M NaHCO ₃
Biomassa	500-1000 mgSSV.L ⁻¹
N total	50-100 mgN.L ⁻¹
TDH	5 dias

A introdução de ar no reator era realizada a fim de manter o ORP próximo a -132 mV (E⁰h), valor recomendado. Uma vez que o reator era aerado, o fluxo de ar seco promovia maiores taxas de evaporação e, conseqüentemente, as vazões afluente e efluente eram diferentes. O TDH foi mantido próximo a 5 dias a partir da compensação das taxas de evaporação no reator por meio do ajuste da vazão de solução cáustica.

7.2.4 Amostragem e monitoramento

As concentrações de nitrogênio total (N total) e dissolvido (Ndissolvido), DQO total e solúvel e sulfato, eram determinadas 3 vezes por semana. Informações relativas às análises químicas realizadas, tais como frequência de análise, diluição, relevância e metodologia utilizada são apresentadas na Tabela 7.2. Ao longo do experimento, partículas de enxofre presentes no

efluente foram observadas microscopicamente a fim de se verificar a formação de enxofre e características associadas.

Tabela 7.2 - Parâmetros monitorados, frequência de análises, diluição, relevância da análise e métodos utilizados.

Parâmetros	Frequência	Diluição	Relevância	Referência
N total		20x	Quantificação de biomassa	HANNA teste kit HI94767A-50
N dissolvido		20x	Excesso de nutrientes	HANNA teste kit HI94767A-50
DQO total	3x por semana	40x	Formação de enxofre	HANNA teste kit HI94754A-25
DQO solúvel		40x	Formação de tiosulfato	HANNA teste kit HI94754A-25
SO ₄ ²⁻		80x	Nível de atividade bacteriana	HACH Lange teste kit LCK 353
Ssed		1x	Quantidade de biomassa e propriedades do enxofre formado	Cone <i>Imhoff</i> (100ml/30min)

Embora a metodologia estabelecida por APHA (2012) determine que as análises de sólidos sedimentáveis (Ssed) devem ser realizadas a partir da observação da sedimentabilidade de 1 L de amostra após 1 hora, uma metodologia ajustada foi utilizada. Segundo protocolo da *Paques B. V.*, devido à escala laboratorial do reator, os sólidos sedimentáveis presentes em apenas 100 ml de amostra eram observados após 30 minutos de sedimentação. O tempo de duração estabelecido para a análise está relacionado à elevada velocidade de sedimentação das partículas de enxofre.

7.2.5 Balanço das espécies de enxofre

O balanço das espécies de enxofre na linha de tratamento foi realizado a partir de resultados obtidos para os parâmetros sulfato, nitrogênio (total e solúvel) e DQO (total e solúvel). Os parâmetros utilizados bem como metodologias de cálculos adotadas para determinação da massas relacionadas a cada fração de enxofre são mostrados na Tabela 7.3. As fórmulas e coeficientes foram determinados a partir de relações estequiométricas entre a demanda de oxigênio necessária para formação dos compostos sulfurosos. Uma vez que o afluente utilizado era sintético, com composição conhecida, a DQO solúvel pôde ser associada à formação de tiosulfato, e a parcela particulada associada à formação de biomassa e enxofre elementar. A concentração de biomassa foi calculada a partir de resultados obtidos na análise de nitrogênio e o oxigênio requerido estequiometricamente na reação de oxidação da biomassa.

Tabela 7.3 - Parâmetros e equações utilizados na determinação das espécies de enxofre presentes na linha de tratamento.

Parâmetros	Equações
SO_4^{2-} (g.d ⁻¹)	$SO_4^{2-} \cdot Q$
$S_2O_3^{2-}$ (g.d ⁻¹)	$\left(\frac{DQO_{solúvel}}{0,5614}\right) \cdot Q$
Biomassa (mg.L ⁻¹)	$(N_{total} - N_{solúvel}) \cdot 10$
DQO biomassa (mg.L ⁻¹)	$Biomassa \cdot 1,45$
DQO S ⁰ (mg.L ⁻¹)	$DQO_{total} - DQO_{solúvel} - DQO_{biomassa}$
S ⁰ (g.d ⁻¹)	$\left(\frac{DQO_{enxofre}}{1,5}\right) \cdot Q$

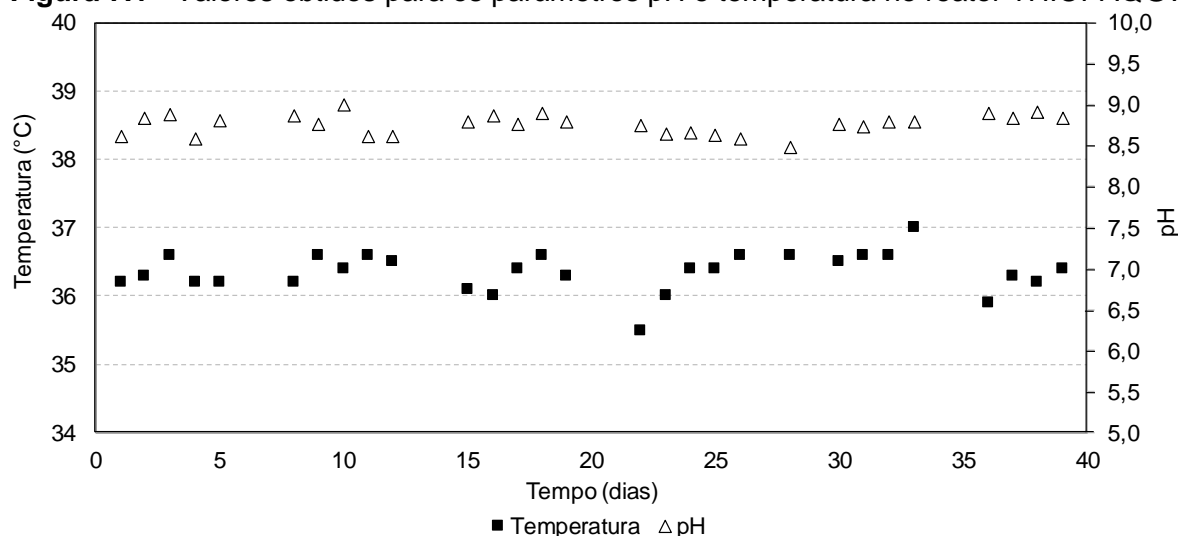
*Massa de DQO requerida estequiometricamente por massa do composto: gDQO/gS₂O₃²⁻-S = 0,5614; gDQO/gBiomassa = 1,45; gDQO/gS⁰-S = 1,5. Q= vazão efluente.

7.3 Resultados e discussão

Embora a estabilização do reator tenha sido realizada entre o período de Outubro/2016 e Janeiro/2017, os resultados iniciais foram instáveis devido a problemas operacionais que ocorreram ao longo da partida do reator, como por exemplo: taxas de evaporação instáveis, entupimento de tubulações e conexões com enxofre elementar, aeração insuficiente, operação de bombas, quantidade de nutrientes requerida e dificuldades relacionadas à obtenção de mistura homogênea de sulfeto no interior do reator. Dessa forma, os resultados apresentados nesse capítulo são relativos aos dados obtidos a partir de 39 dias de operação do reator, período em que os problemas observados foram solucionados e a operação estável do reator foi alcançada.

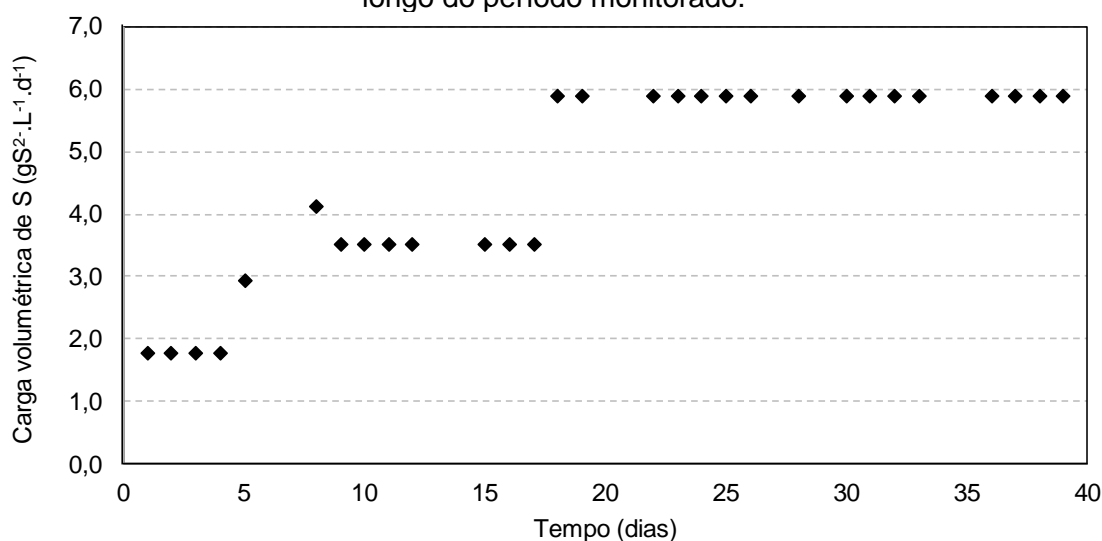
No período em questão, o pH e a temperatura foram mantidos entre 8,5 e 9,0 e 36°C e 37°C, conforme apresentado na Figura 7.1. Uma vez que condições básicas de pH foram observadas, o sulfeto de hidrogênio presente no interior do reator encontrava-se principalmente na sua forma dissociada (CHERNICHARO, 2016). Estudos realizados envolvendo a oxidação biológica de sulfeto (REYES-AVILA *et al.*, 2004; KRISHNAKUMAR *et al.*, 2005; VANNINI *et al.*, 2008; LOHWACHARIN; ANNACHHATRE, 2010; FAJARDO *et al.*, 2012) adotaram pH na faixa de 7-8. Segundo Sorokin e Kuenen (2005), o pH adequado para crescimento da bactéria sulfurosa *Thioalkalivibrio sulfidophilus*, espécie predominante na planta de dessulfurização localizada na *Industriewater Eerbeek B.V.*, Países Baixos, é entre 9 e 10.

Figura 7.1 - Valores obtidos para os parâmetros pH e temperatura no reator THIOPAQ®.



A carga volumétrica de sulfeto inicial foi $1,8 \text{ gS}^{-2} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, elevada gradualmente até atingir a capacidade total do reator, $5,9 \text{ gS}^{-2} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. As cargas de sulfeto aplicadas ao longo do período em questão são apresentadas na Figura 7.2. A evolução da carga de sulfeto aplicada buscou evitar a sobrecarga do reator, uma vez que o crescimento bacteriano contínuo proporcionaria a assimilação de maiores cargas de sulfeto. No entanto, entre os dias operacionais 8 e 9, conforme apresentado na Figura 7.2, a quantidade de biomassa presente no reator não foi suficiente para permitir que o reator operasse de modo estável sob condições de carga $4,1 \text{ gS}^{-2} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. Nesse período, foi necessário dosar ar excessivo a fim de manter o potencial redox próximo ao valor recomendado, -132 mV (E^0h). Sendo assim, a carga de sulfeto foi mantida $3,5 \text{ gS}^{-2} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ até o dia operacional 17.

Figura 7.2 - Evolução da carga volumétrica de sulfeto aplicada ao reator THIOPAQ® ao longo do período monitorado.

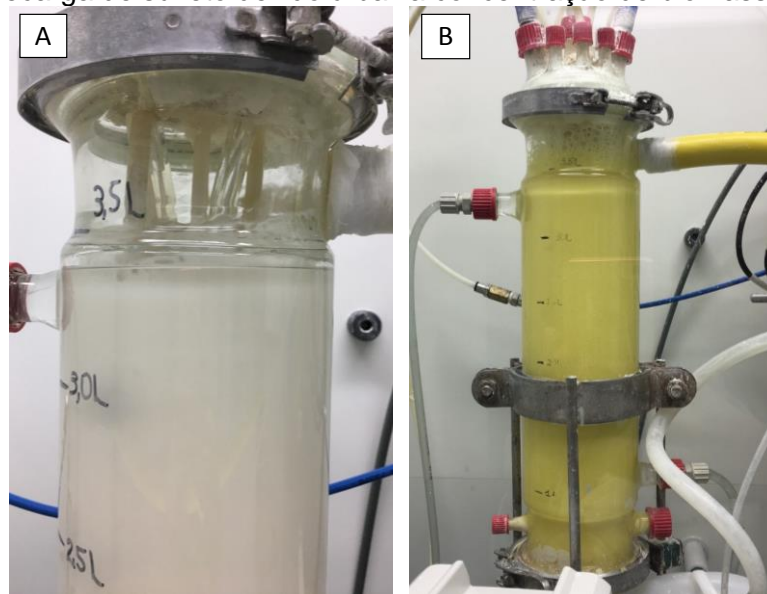


Variações na quantidade de ar adicionado influenciam nas taxas de evaporação do reator e volume útil. Consequentemente, buscando manter condições estáveis no reator, a carga volumétrica de sulfeto foi reduzida e a concentração de nutrientes, alterada de 48 mgN.L⁻¹ para 82 mgN.L⁻¹, a fim de proporcionar o crescimento bacteriano. No dia 11, aeração considerável era observada, indicando atividade biológica insuficiente para manter o potencial redox. Sendo assim, elevou-se a concentração de nutrientes para 195 mgN.L⁻¹. No dia 15 verificou-se excesso de biomassa no reator a partir das análises de nitrogênio, resultando em 1280 mgSSV.L⁻¹. Tal fato também pôde ser observado visualmente a partir da cor avermelhada do reator. Segundo Pérez e Villa (2004), colônias densas de sulfobactérias incolores podem apresentar coloração avermelhada devido à alta presença de citocromo.

Visando obter a concentração de biomassa no reator próxima à recomendada (500-1000 mgSSV.L⁻¹), realizou-se a medição da concentração de nitrogênio no interior do reator e após calcular o excesso, o mesmo foi drenado. O reator foi preenchido com solução de bicarbonato 0,6 M com condutividade ajustada por meio de Na₂SO₄²⁻ para que as condições permanecessem semelhantes às presentes no seu interior. No dia 17 a carga de sulfeto foi alterada para a capacidade total do reator, 5,9 gS²⁻.L⁻¹.d⁻¹. No período subsequente, a concentração de nutrientes foi gradualmente reduzida até 45 mgN.L⁻¹.

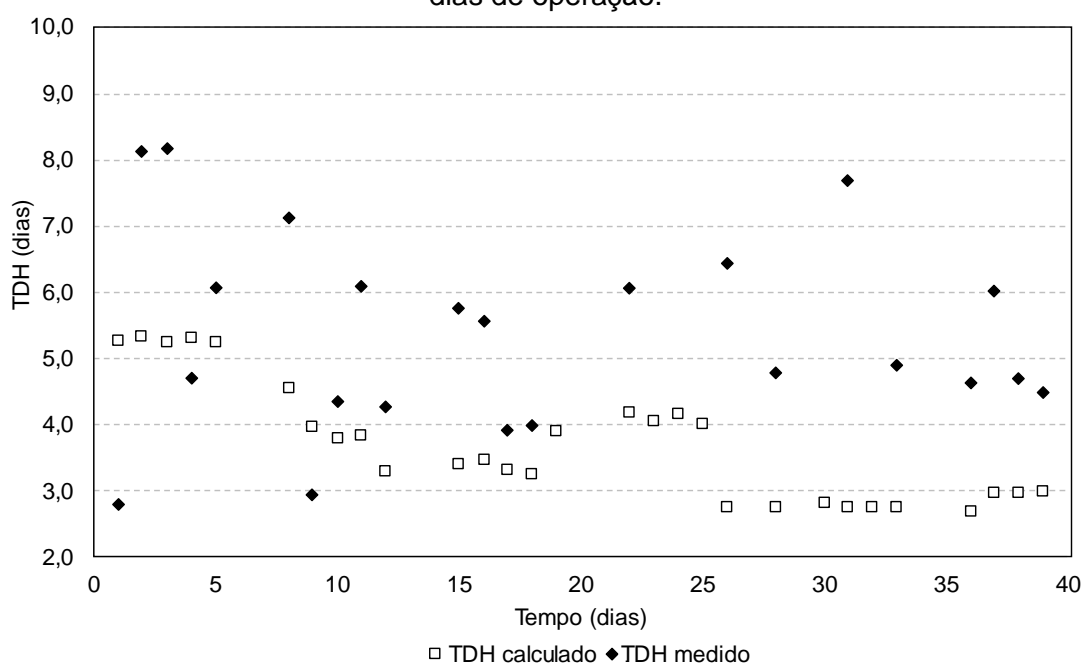
Durante a fase de estabilização, a coloração do efluente do reator apresentou alterações devido à quantidade de biomassa presente no mesmo. Conforme mencionado, assim como o excesso de biomassa estaria associado à coloração avermelhada, concentração insuficiente estaria relacionada à observação de coloração transparente (PÉREZ; VILLA, 2004; MADIGAN, 2010). Uma vez que o enxofre elementar é descrito como um composto de coloração branca ou amarelo-palha (JANSSEN *et al.*, 1999), a formação de enxofre elementar pode resultar em um efluente com coloração branca ou transparente. A Figura 7.3 apresenta diferentes condições nas quais duas colorações podem ser observadas (branca e amarelada). Sob condições estáveis de operação, o reator apresenta a coloração branca, conforme exibido na Figura 7.3 (A). Alterações nas condições operacionais podem resultar em condições instáveis e consequente modificação na coloração do efluente, conforme ilustrado na Figura 7.3 (B). A sobrecarga de sulfeto de hidrogênio no reator pode ser observada a partir da alteração na cor e odor de ovo podre (OSHA, 2016).

Figura 7.3 - Variações observadas nas colorações do efluente do reator THIOPAQ® sob diferentes condições operacionais: reator estável (A) e reator operando sob condições de sobrecarga de sulfeto devido à baixa concentração de biomassa (B).



Além da determinação da concentração ideal de nutrientes, outros parâmetros como TDH, evaporação e vazão, foram ajustados visando o alcance dos valores recomendados e a operação estável do reator. Uma vez que a biomassa era dispersa e não aderida a algum meio suporte no interior do reator, o TDH era diretamente relacionado à quantidade de biomassa retida no reator. Sendo assim, TDH elevados estariam associados à acumulação de biomassa e TDH reduzidos, à perda da biomassa no efluente. Os valores de TDH calculados e a vazão efluente do reator são apresentados na Figura 7.4.

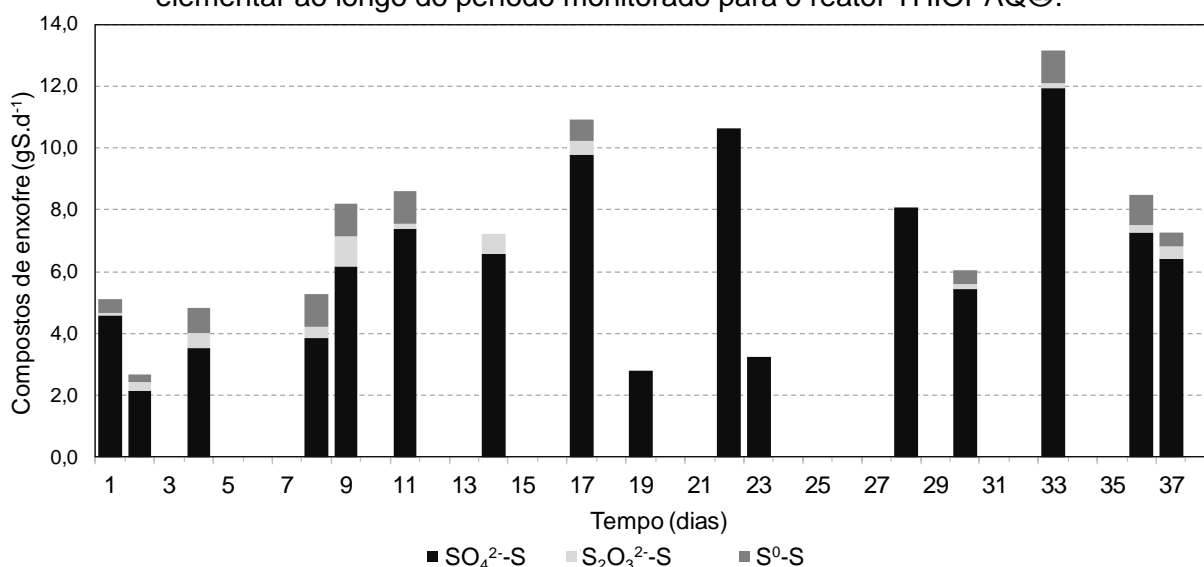
Figura 7.4 - Tempo de detenção hidráulica e vazão do reator THIOPAQ® ao longo de 39 dias de operação.



Conforme descrito, o reator THIOPAQ® trata correntes gasosas, dessa forma o TDH é determinado em função da vazão de solução cáustica dosada e taxa de evaporação calculada. Inicialmente, foram consideradas baixas taxas de evaporação, conseqüentemente, foi adotada baixa vazão de solução cáustica. Uma vez que taxas de evaporação superiores às consideradas inicialmente foram observadas, elevou-se a vazão de solução cáustica afluyente ao reator, visando reduzir o TDH de 8 para 5 dias. A ideia principal em evitar elevados TDH está principalmente relacionada ao tempo necessário para observação do efeito de qualquer mudança realizada nos parâmetros operacionais. A partir da Figura 7.4 é possível observar que do dia 33 ao dia 39, considerando 40% de evaporação ($44,8 \text{ mL.h}^{-1}$ - solução cáustica), observou-se TDH entre 4 e 6 dias, valores próximos ao recomendado (5 dias).

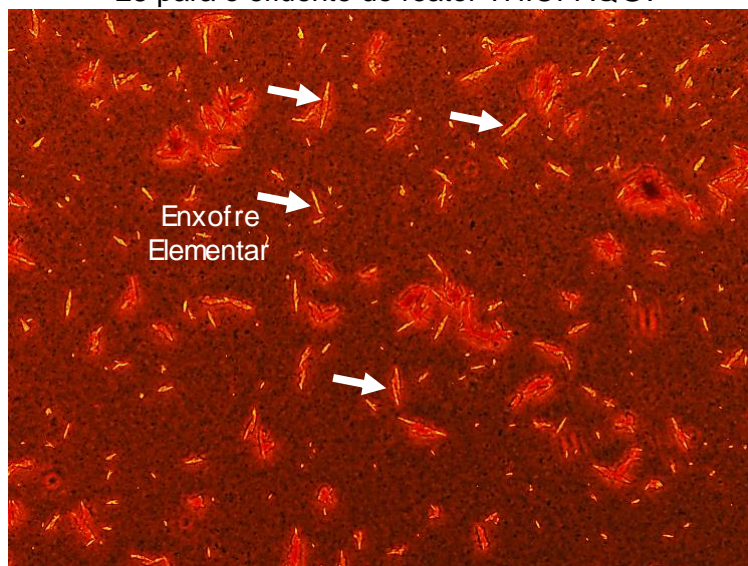
A distribuição das frações de enxofre, calculadas a partir dos parâmetros monitorados, são apresentadas na Figura 7.5. Durante o período experimental, a formação de sulfato se destacou em relação às demais frações (tiosulfato e enxofre elementar). Tal fato pode estar associado à elevada atividade biológica, uma vez que as bactérias sulfurosas obtêm energia adicional ao realizar a oxidação completa a sulfato (MADIGAN, 2010). Há ainda a possibilidade de formação de sulfato decorrente do ORP adotado na presente pesquisa (-132 mV), superior ao valor comumente adotado na linha de tratamento visando limitar a oxidação de sulfeto à formação de enxofre elementar como principal produto da oxidação.

Figura 7.5 - Distribuição das massas de enxofre nas formas de sulfato, tiosulfato e enxofre elementar ao longo do período monitorado para o reator THIOPAQ®.



Embora maior formação de sulfato tenha sido observada, parcela do sulfeto afluente ao reator foi convertido a enxofre elementar, calculado a partir de cálculos estequiométricos e observado no efluente do reator a partir de imagens microscópicas, conforme exibido na Figura 7.6.

Figura 7.6 - Imagem microscópica das partículas de enxofre observadas no dia operacional 28 para o efluente do reator THIOPAQ®.



7.4 Conclusões

Esse capítulo se dedicou à avaliação da influência de condições operacionais na estabilidade de um reator aeróbio de oxidação de sulfeto de alta carga. Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que:

- Diversas condições operacionais influenciaram o desempenho do reator THIOPAQ®. A partir dos resultados obtidos foi possível depreender que a concentração de biomassa é influenciada não somente pela concentração de nutrientes adicionada, como também por outros parâmetros como vazão de solução cáustica, TDH e taxa de evaporação. De maneira geral, observou-se que elevada atividade biológica favorece a formação de sulfato, sendo a concentração de biomassa um fator chave para prevalência de oxidação parcial de sulfeto a enxofre elementar.
- A interrelação entre os diversos parâmetros operacionais interferiram significativamente na estabilização do reator fazendo com o que os resultados da produção de enxofre fossem bastante instáveis e variáveis durante a fase inicial da pesquisa.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

8.1 *Preliminares*

Nos capítulos 5 e 7, dois reatores biológicos de oxidação de sulfeto de hidrogênio foram abordados sob diferentes condições operacionais. A estabilização do reator THIOPAQ® e parâmetros monitorados relacionados ao processo, juntamente com os resultados de oxidação biológica de sulfeto obtidos a partir da adoção de reatores fototróficos, permitiram que a avaliação global entre os reatores biológicos. Dentre as fases avaliadas para os reatores fototróficos, resultados obtidos para o R2-suporte na fase 3 (maior carga de sulfeto aplicada) foram utilizados para comparação com o reator THIOPAQ®.

8.2 *Em relação aos resultados obtidos para os reatores fototróficos*

A utilização de biorreatores fototróficos foi avaliada como alternativa de pós-tratamento de efluente de reator UASB tratando esgoto doméstico real. Além do desempenho global do sistema, foram investigadas conversões relacionadas a compostos sulfurosos e nitrogenados, com destaque à possibilidade de oxidação parcial de sulfeto de hidrogênio a enxofre elementar via fotossíntese anoxigênica realizada por bactérias sulfurosas púrpuras e verdes.

Os efeitos de diferentes condições operacionais e da presença de meio suporte em um dos reatores fototróficos foram avaliados. Embora a oxidação completa de sulfeto a sulfato tenha sido observada, os biorreatores promoveram a formação de enxofre elementar, com destaque para o reator preenchido com meio suporte, com eficiências de formação de enxofre elementar similar ou superiores ao reator controle. A maior eficiência de oxidação de sulfeto foi observada para o maior TDH testado, no entanto ainda que sob condições de reduzido TDH (2 horas), 70% do sulfeto afluente ao reator preenchido com meio suporte foi removido e maior formação de enxofre elementar, observada em termos quantitativos, devido à maior carga de sulfeto aplicada.

Em relação ao desempenho global dos biorreatores, melhor qualidade do efluente final foi observada para o reator preenchido com meio suporte, com DQO total efluente próxima a 100 mgDQO_{Total}.L⁻¹ e concentração de sólidos suspensos inferior a 30 mgSST.L⁻¹, valores de acordo com padrões ambientais de lançamento do estado de Minas Gerais. No que se refere aos compostos nitrogenados, as espécies presentes no efluente dos biorreatores foram similares às comumente presentes em efluente de reatores UASB, comprovando a ausência de oxidação de sulfeto associada à desnitrificação autotrófica.

8.3 Em relação às condições operacionais do reator THIOPAQ®

A partir da etapa de estabilização do reator THIOPAQ®, foi possível observar a influência de diversos parâmetros operacionais na estabilidade e desempenho do sistema. O monitoramento de diversos parâmetros permitiu observar que a concentração de biomassa varia não só em função da concentração de nutrientes adicionada, mas por outras condições, como vazão de solução cáustica, TDH e taxa de evaporação. A susceptibilidade do sistema a diversos fatores, resultou em condições instáveis. Porém, após realizar o ajuste dos parâmetros, o reator permaneceu estável sob condições de máxima carga de sulfeto aplicada.

8.4 Aspectos relacionados à contribuição da presente pesquisa

Nesta pesquisa, buscou-se relacionar o comportamento de reatores de oxidação biológica de sulfeto sob diferentes condições operacionais. A seguir é apresentada a avaliação comparativa entre os reatores de baixa e alta carga.

8.4.1 Influência de diferentes condições operacionais em biorreatores de oxidação de sulfeto

Os reatores THIOPAQ® e fototrófico foram operados sob diferentes condições operacionais, apresentadas na Tabela 8.1.

Tabela 8.1 - Condições operacionais dos reatores THIOPAQ® e fototrófico.

Condições operacionais	Reator THIOPAQ®	Reator Fototrófico
pH	8,8 ¹	6,8 ³
Temperatura (°C)	36,4 ¹	24,8 ³
TDH	5 dias ²	2 horas ⁵
Carga S ²⁻ (gS.m ⁻³ .d)	5900 ⁵	135 ⁴
ORP (mV)	-122,1 ¹	-109,6 ³

* Resultados relativos à mediana de 29 dados (1) 5 dados (2) 15 dados (3) 16 dados (4) e valores adotados (5).

Os valores medianos obtidos para o pH ficaram próximos a valores adotados em estudos anteriores envolvendo oxidação biológica de sulfeto, entre 7 e 8 (HENSHAW *et al.*, 1998; REYES-AVILA *et al.*, 2004; LOHWACHARIN; ANNACHHATRE, 2010; FAJARDO *et al.*, 2012; GARCIA *et al.*, 2017). O pH observado no reator THIOPAQ® (8,8) favoreceu a prevalência do sulfeto na sua forma dissociada, ao passo que sob condições de pH observadas no reator fototrófico (6,8), apenas cerca de 50% do sulfeto esteve presente na sua forma dissociada. O sulfeto dissociado reduz as possibilidades de desprendimento ao longo de

tubulações, conexões e pontos de turbulências, conseqüentemente menor proporção de sulfeto estará presente no *headspace* dos reatores.

Em relação às temperaturas apresentadas na Tabela 8.1, observa-se que embora os valores monitorados para ambos reatores se enquadram na faixa mesófila (20 a 45 °C), o reator THIOPAQ® foi mantido sob condições de temperatura mais elevada, 36,4 °C, se comparada à observada no interior do reator fototrófico, 24,8 °C (MADIGAN, 2010). Estudos realizados envolvendo oxidação biológica de sulfeto (HENSHAW *et al.*, 1998; BERISTAIN-CARDOSO *et al.*, 2011; FAJARDO *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2015) mantiveram os reatores sob condições controladas de temperatura, entre 29 e 30°C, valores próximos aos observados nos reatores THIOPAQ® e fototrófico. Cabe ressaltar que a menor temperatura apresentada para o reator fototrófico se deve à ausência de controle da temperatura no interior do reator, uma vez que o reator foi operado sob condições de temperatura ambiente. A operação do reator fototrófico sob temperatura ambiente não impõe gastos energéticos e constitui aspecto importante.

Os potenciais de ORP observados para os reatores THIOPAQ® e fototróficos, ambos corrigidos para o eletrodo padrão de hidrogênio, foram respectivamente -122,1 e -109,6 mV. Embora os reatores apresentem características distintas em relação à via biológica de oxidação (aeróbia-THIOPAQ® e anaeróbia- fototrófico), o valor observado para o ORP no interior dos reator THIOPAQ® foi inferior ao apresentado para o reator fototrófico. Visto que valores negativos de ORP estão associados a ambientes anaeróbios (MADIGAN, 2010), era esperado que o ORP de um reator aerado fosse superior a um reator anaeróbio. No entanto, o ORP não é influenciado unicamente pela quantidade de oxigênio dosada no reator. Ainda que o reator THIOPAQ® seja aerado, outro parâmetro capaz de afetar o ORP do reator é a carga de sulfeto aplicada. Se comparada à carga aplicada nos reatores fototróficos ($135 \text{ gS}^{2-} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$), 44 vezes inferior, a carga de sulfeto aplicada no reator THIOPAQ® ($5900 \text{ gS}^{2-} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$) justifica o menor ORP observado, uma vez que o oxigênio dosado é rapidamente utilizado na oxidação biológica e química de sulfeto.

Em relação ao TDH dos reatores THIOPAQ® (5 dias) e fototrófico (2 horas), é possível observar que os mesmos são notadamente distintos. A diferença no TDH dos reatores pode ser associada ao tipo de biomassa presente, suspensa no caso do reator THIOPAQ® e aderida no caso do reator fototrófico. Uma vez que a biomassa do reator THIOPAQ® não possuía mecanismo de retenção no interior do reator, a adoção de TDH reduzidos implicaria na perda de biomassa juntamente com o efluente do reator (conforme descrito no item 8.3.1). No caso

específico do reator fototrófico em questão, possivelmente a menor perda de biomassa pode ser associada à presença de anéis de polipropileno como meio suporte, mesmo nas condições de baixo TDH adotado (2 horas).

Sob condições operacionais apresentadas na Tabela 8.1, o reator THIOPAQ® com capacidade de tratar correntes gasosas com carga de sulfeto equivalente a $5900 \text{ g.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, apresentou eficiência superior a 99,5% (PAQUES, 2017). O reator fototrófico, tratando efluente anaeróbio com carga de sulfeto aplicada equivalente a $135 \text{ g.m}^{-3}.\text{d}^{-1}$, apresentou 70% de eficiência mediana, com concentração de sulfeto dissolvido efluente de $3,4 \text{ mgS}^2.\text{L}^{-1}$ (ver item 5.3.2).

8.4.2 Aplicabilidade de reatores de oxidação de sulfeto de baixa e alta carga

Estudos realizados avaliando reatores de oxidação biológica de sulfeto utilizando bactérias quimiolitotróficas oxidadoras de sulfeto (bactérias sulfurosas incolores) de modo geral alcançaram eficiências superiores sob condições de cargas de sulfeto aplicadas também superiores às adotadas em sistemas fototróficos (KOBAYASHI *et al.*, 1983; HENSHAW *et al.*, 1998; KRISHNAKUMAR *et al.*, 2005; LOHWACHARIN, ANNACHHATRE, 2010).

Nesse sentido, as vias de oxidação biológica apresentadas possuem diferentes aplicações, sendo portanto adotadas sob distintas condições operacionais. O sistema THIOPAQ® apresenta elevada eficiência sob elevadas cargas de sulfeto aplicadas, no entanto, as condições operacionais devem ser rigorosamente controladas, a fim de garantir o favorecimento da oxidação parcial de sulfeto a enxofre elementar, com máxima eficiência e menores custos operacionais (principalmente energéticos). Embora seja uma tecnologia consolidada e adotada para diversas tipologias industriais, a automatização requerida e custos associados ao controle das condições operacionais tornam o reator THIOPAQ® menos compatível à realidade presente nas estações de tratamento de esgoto doméstico brasileiras, quando comparada às condições operacionais do reator fototrófico.

Embora o reator fototrófico não tenha alcançado elevada eficiência mediana de remoção de sulfeto para o TDH de 2 horas (70%), entende-se que a imposição de algumas alterações nas condições naturalmente presentes no biorreator (como por exemplo pH e luminosidade) poderia resultar na elevação das eficiências de remoção de sulfeto no reator, sem torná-lo complexo.

O fluxograma constituído por reator UASB seguido de reator fototrófico é simplificado, compacto e de baixo custo. Embora as concentrações de sulfeto presentes no efluente dos

biorreatores não atendam de modo geral a legislação ambiental (com exceção do R2-suporte para o TDH de 6 horas), modificações nas condições naturalmente presentes nos biorreatores (pH, potencial redox e luminosidade) podem fornecer condições favoráveis à oxidação de sulfeto a enxofre elementar, de modo a assegurar a maior eficiência do sistema. A adoção de reator fototrófico preenchido com anéis de polipropileno como unidade de pós-tratamento de efluente de reator UASB proporcionou a melhoria da qualidade do efluente final, ainda que a remoção de nitrogênio amoniacal não tenha sido observada, apresentando concentrações efluentes de DQO da ordem de $100 \text{ mgDQO}_{\text{total}} \cdot \text{L}^{-1}$ e SST inferior a $30 \text{ mgSST} \cdot \text{L}^{-1}$, ao longo das três fases monitoradas

9 RECOMENDAÇÕES

A partir dos resultados obtidos e discussão relativos à esta pesquisa, são recomendados os seguintes itens para continuidade da pesquisa envolvendo oxidação biológica de sulfeto:

- Avaliar a alternativa de realizar o controle de condições operacionais intervenientes na eficiência do processo, tais como elevação de pH e redução ORP, a fim de determinar condições ideais favoráveis à ocorrência de oxidação biológica parcial de sulfeto a enxofre elementar;
- Realizar o monitoramento da energia luminosa no interior dos biorreatores, de modo a comparar as condições de luminosidade interiores aos biorreatores com presença de meio suporte. Avaliar diferentes condições de iluminação (redução da área superficial transparente do reator e da seleção do comprimento de onda favorável à atividade de bactérias sulfurosas) e o efeito nas eficiências de oxidação de sulfeto e formação de enxofre elementar, visando alcançar luminosidade suficiente para máxima eficiência do processo;
- Identificar o percentual de enxofre elementar presente no precipitado branco efluente dos biorreatores e avaliar metodologias de recuperação e aproveitamento tanto no precipitado presente no efluente como no lodo dos biorreatores.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, P.G.S. *Remoção de matéria orgânica e nitrogênio em filtros biológicos percoladores aplicados ao pós-tratamento de efluentes de reatores UASB*. 2012. 204 p. Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos - Escola de Engenharia). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.
- ALTSCHUL, S. F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E.; LIPMAN, D. Basic local alignment search tool. *Journal of molecular biology*, v. 215, n. 3, p. 403-410, 1990.
- AMIM, R. S. *Avaliação de parâmetros cinéticos de uma cultura mista de microorganismos destinados à eliminação autotrófica de nitrogênio via oxidação de tiosulfato*. 2008. 161 p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia Química – Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.
- ANNACHHATRE, A. P.; SUKTRAKOOLVAIT, S. Biological Sulfide Oxidation in a Fluidized Bed Reactor. *Environmental Technology*, v. 22, n. 6, p. 661-672, 2001.
- APHA; AWWA; WEF. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. Washington, 2012.
- ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. *Hydrogen sulfide and carbonyl sulfide*. Atlanta, 298 p., 2016
- BARÉA, L. C. ALEM SOBRINHO, P. Comportamento de lagoa de polimento na Região Metropolitana de Curitiba e possibilidade de uso de lentilhas d'água para melhoria da qualidade do efluente. *Sanare: Revista Técnica da Sanepar*, Curitiba, v. 24, p. 46-60, 2006.
- BERISTAIN-CARDOSO, R.; GÓMEZ, J.; MÉNDEZ-PAMPÍN, R. Sulfide and ammonium oxidation, acetate mineralization by denitrification in a multipurpose UASB reactor. *Bioresource Technology*, v. 102, p. 2549-2554, 2011.
- BERISTAIN-CARDOSO, R.; SIERRA-ALVAREZ, R., ROWLETTE, P.; FLORES, E. R.; GÁMEZ, J., FIELD, J. A. Sulfide oxidation under chemolithoautotrophic denitrifying conditions. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 95, p. 1148-1157, 2006.
- BERISTAIN-CARDOSO, R.; TEXIER, A.; SIERRA-ÁLVAREZ, R.; FIELD, J. A.; RAZO-FLORES, E.; GÓMEZ, J. Simultaneous sulfide and acetate oxidation under denitrifying conditions using an inverse fluidized bed reactor. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, v. 83, p. 1197-1203, 2008.
- BITTON, G. *Wastewater Microbiology*. 4 ed. John Wiley & Sons, Inc., 2011. 784 p.
- BJORNSSON, L.; HUGENHOLTZ, P.; TYSON, G. W.; BLACK, L. L. Filamentous *Chloroflexi* (green non-sulfur bacteria) are abundant in wastewater treatment process with biological nutrient removal. *Microbiology*, v. 148, p. 2309-2318, 2002.
- 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, 2011.
- BUISMAN, C. J. N.; GERAATS, B. G.; LJSPEERT, P.; LETTINGA, G. Optimization of Sulphur production in a Biotechnological Sulphide-Removing Reactor. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 35, p. 50-56, 1990.
- CADENA, F.; PETERS, R. W. Evaluation of chemical oxidizers for hydrogen sulfide control. *Journal Water Pollution Control Federation*, v. 60, n. 7, p. 1259-1263, 1988.

- CALEGARI-JAQUES, S. M. *Bioestatística: princípios e aplicações*. Artmed Editora S.A, Porto Alegre, 2003. 255 p.
- CAMILOTI, P. R. *Recuperação de enxofre elementar em reatores microaerados*. 2012. 113 p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.
- CARRARO, A. Avaliação de um sistema de tratamento de esgoto com recebimento intermitente de lodo de ETA por meio de RALF e Filtro Biológico Aeróbio Convencional. *Sanare: Revista Técnica da Sanepar*, Curitiba, v. 24, p. 46-60, 2006.
- CASTRO, I. M. P. *Avaliação da microaeração para remoção de sulfeto de hidrogênio produzido em reator UASB tratando de esgoto doméstico*. 92 p. [manuscrito] Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - Escola de Engenharia- Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017.
- CHEN, C., WANG, A.J., REN, N.Q., LEE, D.J., LAI, J.Y. High-rate denitrifying sulfide removal process in expanded granular sludge bed reactor. *Bioresour. Technol.* v. 100, n. 7, p. 2316–2319, 2009.
- CHERNICHARO, C. A. L.; ALMEIDA, P. G. S.; LOBATO, L. C. S.; COUTO, T. C.; BORGES, J. M. Experience with the design and start up of two full-scale UASB plants in Brazil: enhancements and drawbacks. *Wat. Sci. Technol.*, v. 60, n. 2, p. 507-515, 2009.
- 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.
- CHERNICHARO, C.A.L., VAN LIER, J.B., NOYOLA, A., RIBEIRO, T.B. Anaerobic sewage treatment: state of the art, constraints and challenges. *Environ Sci Biotechnol*, v. 14, 649–679, 2015.
- CLINE, C.; HOKSBERG, A.; ABRY, R.; JANSSEN, A. Biological Process for H₂S removal from gas streams the Shell-Paques/Thiopaq gas desulfurization process. *Paper for the LRGCC*, Norman (Oklahoma), p. 23 –26, 2003.
- COHEN, Y., PADAN, E.; SHILO, M. Facultative anoxygenic photosynthesis in the cyanobacterium *Oscillatoria limnetica*. *J. Bacteriol.*, v. 123, p. 855-861, 1975.
- DE GRAAF, C. M. *Biological treatment of sulfidic spent caustics under haloalkaline conditions using soda lake bacteria*. 2012. 132 p. Tese (doutorado). Universidade de Wageningen University, Wageningen, Países Baixos, 2012.
- DINIZ, R. C. O. *Estrutura e dinâmica da comunidade bacteriana presente em reatores de oxidação biológica de sulfeto*. 2015. 94 p. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - Escola de Engenharia - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.
- ELKANZI, E. M. Simulation of the Process of Biological Removal of Hydrogen Sulfide from Gas. In: *Proceedings of the 1st Annual Gas Processing Symposium*. p. 266-275, 2009.
- ELSHAHED, M. S.; SENKO, J. M.; NAJAR, F. Z.; KENTON, S. M.; ROE, B. A.; DEWERS, T. A.; SPEAR, J. R.; KRUMHOLZ, L. R. Bacterial diversity and sulfur cycling in a mesophilic sulfide-rich spring. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 69, n. 9, p. 5609-5621, 2003.
- FAJARDO, C.; CORRAL-MOSQUERA, 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.

- FDZ-POLANCO, F.; FDZ-POLANCO, M.; FERNANDEZ, N.; URUEÑA, M. A.; GARCIA, P. A.; VILLAVARDE, S. New process for simultaneous removal of nitrogen and sulphur under anaerobic conditions. *Wat. Res.*, v. 35, n. 4, p. 1111–1114, 2001.
- FLORENCIO, L.; KATO, M. T.; MORAIS, J. C. Domestic sewage treatment in full-scale UASB plant at Mangueira, Recife, Pernambuco. *Water Sci Technol.*, v. 44, n. 4, p.71–77, 2001.
- FORESTI, E.; ZAIAT, M.; VALLERO, M. Anaerobic process as the core technology for sustainable domestic wastewater treatment: Consolidated applications, new trends, perspectives, and challenges. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, v.5, n. 1, p. 3-19, 2006.
- FRANCO, P. L. P. Análise da potencialidade do reúso indireto potável: Estudo de Caso da ETE Atuba Sul, Região metropolitana de Curitiba. 2010. 238 p. Dissertação (mestrado profissional em Meio Ambiente Urbano e Profissional) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.
- FRIEDRICH, C. G.; BARDISCHEWSKY, F.; ROTHER, D.; QUENTMEIER, A.; FISCHER, J. Prokaryotic sulfur oxidation. *Science*, v. 8, p. 253-259, 2005.
- FRIEDRICH, C. G. Physiology and Genetics of Sulfur-oxidizing Bacteria. *Advances in microbial physiology*, v. 39, p. 235-289, 1998.
- FURTADO, A. L. F. F.; CALIJURI, M. C.; LORENZI, A. S.; HONDA, R. Y.; GENUARIO, D. B.; FIORE, M. F. Morphological and molecular characterization of cyanobacterium from a Brazillian facultative wastewater stabilization pond and evaluation of microcystin production. *Hydrobiologia*, v. 627, n. 1, p. 195–209.
- GARCIA, G. P. P. *Estudo do desempenho e da comunidade microbiana de biorreator tratando efluente anaeróbio contendo sulfeto*. 2014. 138 p. Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - Escola de Engenharia - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.
- GAFAN, G. P.; LUCAS, V. S.; ROBERTS, G. J.; PETRIE, A.; WILSON, M.; SPRATT, D. A. Statistical analyses of complex denaturing gradient gel electrophoresis profiles. *J. Clin. Microbiol.* v. 43, p. 3972–3978, 2005.
- GARCIA DE LOMAS, J.; CORZO, A.; GONZALEZ, J. M.; ANDRADES, J. A.; IGLESIAS, E.; MONTERO, M. J. Nitrate promotes biological oxidation of sulfide in wastewater: experiment at plant-scale. *Biotechnol. Bioeng.*, v. 93, n. 4, p. 801–811, 2005.
- GARCIA, G. P. P.; DINIZ, R. C. O.; BICALHO, S. K.; FRANCO, V. A.; GONTIJO, E. M. O.; TOSCANO, R. A.; CANHESTRO, K. O.; SANTOS, M.; CARMO, A. L.; LOBATO, L. C.; BRANDT, E. M.; CHERNICHARO, C. A. L.; ARAUJO, J. C. Biological sulphide removal from anaerobically treated domestic sewage: reactor performance and microbial community dynamics. *Environ. Technol.* v. 36, p. 1–26, 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.; ARAUJO, J. C. Microbial community and sulphur behaviour in phototrophic reactors treating UASB effluent under different operational conditions. *International Biodeterioration and Biodegradation*, v. 119, 486-498, 2017.
- GARCIA, G. P. P. *Estudo do desempenho e da comunidade microbiana de biorreator tratando efluente anaeróbio contendo sulfeto*. 2014. 138 f. Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - Escola de Engenharia - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

- GARLICK, S.; OREN, A.; PADAN, E. Occurrence of facultative anoxygenic photosynthesis among filamentous and unicellular cyanobacteria. *J. Bacteriol.*, v. 129, p. 623-629, 1977.
- 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 Res.*, v. 32, n. 6, p. 1769- 1778, 1998.
- HENSHAW, P. F.; ZHU, W. Biological conversion of hydrogen sulphide to elemental sulphur in a fixed-film continuous flow photo-reactor. *Wat. Res.*, v. 35, n. 15, p. 3605-2001.
- HENZE, M.; HARREMOËS, P.; LA COUR JANSEN, J.; ARVIN, E. *Wastewater Treatment: Biological and Chemical Processes*. 3rd ed., Springer-Verlag, Berlin, 2001. 422 p
- HUANG, C; ZHAO, Y; LI, Z; YUAN, Y; CHEN, Y; 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.
- HUG, L. A.; CASTELLE, C. J.; WRIGHTON, K. C.; THOMAS, B. C.; SHARON, I.; FRISCHKORN, K. R.; WILLIAMS, K. H.; TRINGE, S. G.; BANFIELD, J. F. Community genomic analyses constrain the distribution of metabolic traits across the *Chloroflexi* phylum and indicate in sediment carbon cycling. *Microbiome*, v.1, n. 22, 17p., 2013.
- HULSHOFF POL, L. W.; LENS, P. N. L.; STAMS, A. J. M.; LETTINGA, G. Anaerobic treatment of sulphaterich wastewaters. *Biodegradation*, v. 9, p. 213-224, 1998.
- JANSSEN, A. J. H.; DE KEIZER, A.; LETTINGA, G. Colloidal properties of a microbiologically produced sulphur suspension in comparison to a LaMer sulphur sol. *Colloids Surf.*, v. 3, p. 111-117, 1994.
- JANSSEN, A. J. H.; LETTINGA, G.; KEISER, A. Removal of hydrogen sulfide from wastewater and waste gases by biological conversion to elemental sulfur. Colloidal and interfacial aspects of biologically produced sulphur particles. *Elsevier*, v. 151, p. 389-397, 1999.
- JANSSEN, A. J. H.; MEIJER, S.; BONTSEMA, J.; LETTINGA, G. Application of the redox potential for controlling a sulfide oxidizing bioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 60, n. 2, p. 147-155, 1998.
- JANSSEN, A. J. H.; LENS, P. N. L, STAMS, A. J. K.; PLUGGE, C. M.; SOROKIN, D. Y.; MUYZER, G.; DIJKMAN, H.; ZESSEN, E. V.; LUIMES, P.; BUISMAN, C. J. N. Application of bacteria involved in the biological sulfur cycle for paper mill effluent purification. *Science*, v. 407, p. 1333-1343, 2009.
- JANSSEN, A.; KEIZER, A.; VAN AELST, A.; FOKKINK, R.; YANGLING, H.; LETTINGA, G. Surface characteristics and aggregation of microbiologically produced sulphur particles in relation to the process conditions. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, v. 6, p. 115-129, 1996.
- JENSEN, A. B.; WEBB, C. Ferrous sulphate oxidation using *Thiobacillus ferrooxidans*: a review. *Process Biochemistry*, v. 30, n. 3, p. 225-236, 1995.
- JORDÃO, E. P; PESSÔA, C.A. *Tratamento de Esgotos Domésticos 7ª edição*, Rio de Janeiro. Associação Brasileira de Engenharia Sanitária – ABES, , 2014, 1087 p.
- KLOK, J. B. M.; VAN DEN BOSCH, P. L. F.; BUISMAN, C. J.; STAMS, A. J. M.; KEESMAN, K. J.; JANSSEN, A. J. H. Pathways of sulfide oxidation by haloalkaliphilic bacteria in limited-oxygen gas lift bioreactors. *Environmental Science and Technology*, v. 46, p. 7581-7586, 2012.

- KOBAYASHI, H. A.; STENSTROM, M.; MAH, R.A. Use of photosynthetic bacteria for hydrogen sulfide removal from anaerobic waste treatment effluent. *Water Research*, v. 17, n.5, p. 579-587, 1983.
- KRAYZELOVA, L.; BARTECEK, J.; DÍAZ, I.; JEISON, D.; VOLCKE, E. I. P.; JENICEK, P. Microaeration for hydrogen sulfide removal during anaerobic treatment: a review. *Environ. Sci. Biotechnol.*, v. 14, p. 703-725, 2015.
- KRISHNAKUMAR, B.; MAJUMDAR, S.; V. B. MANILAL, V. B.; AJIT HARIDAS. Treatment of sulphide containing wastewater with sulphur recovery in a novel reverse fluidized loop reactor (RFLR). *Water Research*, v. 39, p. 639-647, 2005.
- KUENEN, J.G., Colourless sulphur bacteria and their role in the sulphur cycle. *Plant and soil*, v. 43, n. 1, p. 49-76, 1975.
- LAUREN, N. R.; WATKINSON, J. H. Elemental sulphur analysis using high-performanceliquid chromatography on 10-µm rigid polymer particles. *Journal of Chromatography, Amsterdam*, v. 348, p. 317-320, 1985.
- LENS P. N. L., VISSER A., JANSEN A. J. H., HULSHOFF POL L. W., LETTINGA G. Biotechnological treatment of organic sulphate-rich wastewaters. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v. 28, n. 1, p. 41-88, 1998.
- LENS, P. Sulfur cycle. *Encyclopedia of Microbiology*. Oxford: Elsevier. p. 361-369, 2009.
- LEVINE, A. D.; RAYMER, B. J.; JAHN, J. Evaluation of biological Hydrogen Sulfide Oxidation Coupled with Two-Stage Upflow Filtration for Groundwater Treatment. *Journal of Environmental Science and Health*, v. 39, n. 5, p. 1263-1279, 2004.
- LIMA, J. F.; SOUSA, J. T.; LIMA, D. A.; HENRIQUE, I. N.; SANTOS, E. V. M. Controle e remoção de sulfetos em reatores anaeróbios tratando esgoto sanitário. *DAE*, p. 65-75, 2016.
- LOHWACHARIN, J.; ANNACHHATRE, A. P. Biological sulfide oxidation in an airlift bioreactor. *Bioresource Technology*, v. 101, n. 7, p. 2114-2120, 2010.
- LIU, C; ZHAO, D.; YAN, L.; WANG, A.; GU, Y.; LEE, D. Elemental sulfur formation and nitrogen removal from wastewaters by autotrophic denitrifiers and anammox bacteria. *Bioresource Technology*, v.191, p. 332-336, 2015.
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. *Brock biology of microorganisms*. Prentice-Hall, 3rd ed., 2010. 1155 p.
- MAHMOOD, Q.; ZHENG, P.; HU, B.; JILANI, G.; AZIM, M. R.; WU, D.; LIU, D. Isolation and characterization of *Pseudomonas stutzeri* Q21 from anoxic sulfide-oxidizing bioreactor. *Anaerobe*, v. 15, p. 108-115, 2009.
- MANZ, W.; AMANN, R.; LUDWIG, W.; WAGNER, M. e SCHLEIFER, K. H. Phylogenetic oligodeoxynucleotide probes for the major subclasses of Proteobacteria: problems and solutions. *Syst. Appl. Microbiol.*, v. 15, p. 593-600, 1992.
- MCINERNEY, M. J.; STRUCHTEMEYER, C. G.; SIEBER, J.; MOUTTAKI, H.; STAMS, A. J. M.; SCHINK, B.; ROHLIN, L.; GUNSALUS, R. P. Physiology, Ecology, Phylogeny, and Genomics of Microorganisms Capable of Syntrophic Metabolism. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1125, p. 58-72, 2008.
- 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.
- MOKHATAB, S.; POE, A. W.; SPEIGHT, J. G. *Handbook of Natural Gas Transmission and Processing*. Gulf Professional Pub., 2006. 636 p.
- OSHA. Occupational Safety and Health Administration. *Hydrogen Sulfide*. Disponível em: <<https://www.osha.gov/SLTC/hydrogensulfide/hazards.html>>. Acesso em: dez. 2016).
- PANDEY, N.; DUBEY, S. K. Up-flow anaerobic sludge bed (UASB) based sewage treatment plant (STP) at Mirzapur: a review. *Int Res J Environ Sci.*, v. 3, n. 8, p. 67–71, 2014.
- PAQELL. Disponível em: <www.paqell.com>. Acesso em mai. 2016).
- PAQUES. Disponível em: <<http://en.paques.nl/products/featured/thiopaq>>. Acesso em mar. 2017.
- PEÑA, M. R.; RODRIGUEZ, J.; MARA, D. D.; SEPULVEDA, M. UASBs or anaerobic ponds in warm climates? A preliminary answer from Colombia use of biogas for cogeneration of heat and electricity for local application: performance evaluation of na engine power generator and a sludge thermal dryer. *Water Sci. Technol.*, v. 42, n. 10, p.59-65, 2000.
- PEÑA, M. R.; MARA, D. D.; AVELLA, G. P. Dispersion and tratment performance analysis of na UASB reactor under different hydraulic loading rates. *Water Res.*, v. 40, n. 3, p. 445-452, 2006.
- PÉREZ, H. e VILLA, P. Desulfuración biológica: Uma alternativa para el tratamiento de emisiones de gases a la atmosfera. *AIDIS*, v. 5, n. 3, p.22-27, 2004.
- 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 sulphur bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*. v. 36, n. 6, p. 817-822, 1992.
- POKORNA, D.; ZABRANSKA, J. Sulfur-oxidizing bacteria in environmental technology. *Biotechnology Advances*, v. 33 p. 1246-1259, 2015.
- RABAEY, K.; VANDESOMPEL, K.; MAIGNIEN, L.; BOON, N.; AELTERMAN, P.; CLAUWAERT, P.; SCHAMPHELAIRE, L.; PHAM, H. T.; VERMEULEN, J.; VERHAEGE, M.; LENS, P.; VER- STRAETE, W. Microbial fuel cells for sulfide removal. *Environ. Sci. Technol.*, v.40, p.5218–5224, 2006.
- REYES-AVILA J, RAZO-FLORES E, GOMEZ J. Simultaneous biological removal of nitrogen, carbon and sulfur by denitrification. *Water Res.*, v. 38, p. 3313–21, 2004.
- RIBEIRO, T. B. *Sistema UASB/FBP submetido a hidrograma típico de vazão: avaliação do uso de meio suporte baseado em espuma de poliuretano e operação sem decantadores secundários*. 2015. 173 p. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos - Escola de Engenharia). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.
- RICKARD, D. LUTHER, G. W. Chemistry of Iron Sulfides. *Chem. Rev.*, v. 107, p.514-562, 2007.
- ROSA, A. P.; LOBATO, L. C. S.; CHERNICHARO, C. A. L. MARTINS, D. C. R. B.; MACIEL, F. M.; BORGES, J. M. Improving performance and operational control of UASB reactors via proper sludge and scum discharge routines. *Water Pract Technol.*, v. 7, n. 3, 11 p., 2012.

- SILVA, A. J. *Biodessulfatação com posterior oxidação parcial do sulfeto em reatores operados em bateladas seqüenciais*. 2005. 174 f. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.
- SILVA, A. J.; VARESCHE, M. B.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. Sulphate removal from industrial wastewater using a packed-bed anaerobic reactor. *Process Biochemistry*, v. 37, p. 927-935, 2002.
- SOMDEE, T.; KAEWSAN, T.; SOMDEE, A. Monitoring toxic cyanobacteria and cyanotoxins (microcystins and cylindrospermopsins) in four recreational reservoirs (Khon Kaen, Thailand). *Environ. Monit. Assess*, v. 185, p. 9521-9529, 2013.
- SOROKIN, D. Y.; KUENEN, J. G. Haloalkaliphilic sulfur-oxidizing bacteria in soda lakes. *FEMS Microbiology Reviews*, v. 29, p. 685-702, 2005.
- SOROKIN, D. Y.; VAN DEN BOSCH, P. L. F.; ABBAS, B.; JANSSEN, A. J. H.; MUYZER, G. Microbiological analysis of the population of extremely haloalkaliphilic sulfur-oxidizing bacteria dominating in lab-scale sulfide-removing bioreactors. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* v. 80, p. 965-975, 2008.
- SOUZA, T. S. O. *Desnitrificação autotrófica usando sulfeto como doador de elétrons para remoção de nitrogênio de efluentes de reatores anaeróbios utilizados no tratamento de esgotos sanitários*. 2011. 167 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola de Engenharia - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.
- SOUZA, C. L. *Estudo das rotas de formação, transporte e consumo dos gases metano e sulfeto de hidrogênio resultantes do tratamento de esgoto doméstico em reatores UASB*. 2010. 127 p. Tese (Doutorado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) - Escola de Engenharia- Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.
- STAL, L.J. Physiological ecology of cyanobacteria in microbial mats and other communities. *New Phytol*, v.131, p.1-32, 1995.
- SYED, M.; SOREANU, G.; FALLETA, P.; BÉLAND, M. Removal of hydrogen sulfide from gas streams using biological process - A review. *Canadian Biosystems Engineering/Le génie des biosystèmes*, v.48, p. 2.1 - 2.14, 2006.
- TACHINI, M.; FILHO, P. B.; PINHEIRO, A. Avaliação de tratamento integrado de esgotos sanitários e de lodo de tanques sépticos em um RALF – um estudo de caso . *Sanare: Revista Técnica da Sanepar*, Curitiba, v. 24, p. 46-60, 2006.
- 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. 1-22, 2009.
- TORRES P.; FORESTI E. Domestic sewage treatment in a pilot system composed of UASB and SBR reactors. *Water Science and Technology*, v. 44, n.4, p.247–253, 2001.
- USEPA, United States Environmental Protection Agency. *Acute Exposure Guideline Levels for Selected Airborne Chemicals*. Washington D.C., v. 9, 2010. 70 p.
- VAN LIER, J.B.; TILCHE, A.; AHRING, B. K.; MACARIE, H.; MOLETTA, R.; DOHANYOS, M. New perspectives in anaerobic digestion. *Water Sci Technol.*, v. 43, p. 1–18, 2001.
- VANNINI, C.; MUNZ, G.; MORI, G.; LUBELLO, C.; VERNI, F.; PETRONI, G. Sulphide oxidation to elemental sulphur in a membrane bioreactor: Performance and characterization of the selected microbial sulphur- oxidizing community. *Systematic and Applied Microbiology*, v. 31, p. 461-473, 2008.

- VAZ-MOREIRA, I.; NOBRE, M. F.; NUNES, O. C.; MANAIA, C. M. *Gulbenkiania mobilis* gen. Nov., sp. nov., isolated from treated municipal wastewater. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, v. 57, p. 1108-1112, 2007.
- VON SPERLING, M.; CHERNICHARO, C.A.L. *Biological Wastewater Treatment in Warm Climate Regions*. IWA Publishing, London, UK, 2005.
- VON SPERLING, M. *Princípios do tratamento biológico de águas residuárias- Vol. 1: Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos*. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG. 4ª.ed. Belo Horizonte, 2014. 472 p.
- WANG, A.; DU, D.; REN, N.; VAN GROENESTIJN, J. W. An Innovative Process of Simultaneous Desulfurization and Denitrification by *Thiobacillus denitrificans*. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, v. 40, n. 10, p. 1939-1949, 2005.
- WANG, Q.; GARRITY, G.; TIEDJE, J.; COLE, J. Naive bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Appl Environ Microbiol*, v. 73, n. 16, p. 5261-5267, 2007.
- WATANABE, T.; KOJIMA, H.; FUKUI, M. Draft Genome Sequence of a Sulfur-Oxidizing Autotroph, *Sulfuricella* sp. Strain T08, Isolated from a Freshwater Lake. *Genome announcements*, v. 3, n. 3, 2 p., 2015.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Guidelines for drinking-water quality*. 4th ed. Geneva, Switzerland, 2011. 541p.
- ZHANG, L.; SCHRYVER, P.; GUSSEME, B.; MUYNCK, W.; BOON, N.; VERSTRAETE, W. Chemical and biological technologies for hydrogen sulfide emission control in sewer systems: A review. *Water Research*, v. 42, n. 1-2 p.1-12, 2008.