BIODESSULFATAÇÃO COM POSTERIOR OXIDAÇÃO PARCIAL DO SULFETO EM REATORES OPERADOS EM BATELADAS SEQÜENCIAIS

ARIOVALDO JOSÉ DA SILVA

Tese apresentada à Escola de Engenharia de
São Carlos, da Universidade de São Paulo,
como parte dos requisitos para obtenção de
título de Doutor em Hidráulica e Saneamento.

ORIENTADOR: Professor Associado Marcelo Zaiat

São Carlos

2005

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento da Informação do
Serviço de Biblioteca - EESC/USP

Silva, Ariovaldo José da

S586b Biodessulfatação com posterior oxidação parcial do sulfeto em
reatores operados em bateladas sequenciais / Ariovaldo José da
Silva. -- São Carlos, 2005.

Tese (Doutorado) -- Escola de Engenharia de São Carlos-
Universidade de São Paulo, 2005.

Área : Hidráulica e Saneamento.

Orientador: Prof. Assoc. Marcelo Zaiat.

1. Águas residuárias. 2. Remoção de sulfato.
3. Reatores anaeróbios. 4. Processos biológicos.
5. Oxidação de sulfeto. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Tecnólogo **ARIOVALDO JOSÉ DA SILVA**

Tese defendida e julgada em 18-02-2005 perante a Comissão Julgadora:

Prof. Associado **MARCELO ZAIAT (Orientador)**
(Escola de Engenharia de São Carlos/USP) Aprovado

Prof. Titular **JOSÉ ROBERTO CAMPOS**
(Escola de Engenharia de São Carlos/USP) Aprovado

Prof. Dr. **EDSON LUIZ SILVA**
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar) Aprovado

Prof. Dr. **EDSON APARECIDO ABDUL NOUR**
(Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP) APROVADO

Prof. Dr. **CARLOS AUGUSTO DE LEMOS CHERNICHARO**
(Universidade Federal de Minas Gerais) Aprovado

Profª. Titular **MARIA DO CARMO CALIJURI**
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em
Engenharia (Hidráulica e Saneamento) e
Presidente da Comissão de Pós-Graduação

DECLARAÇÃO UNIVERSAL DOS DIREITOS DA ÁGUA (ONU, 1992)

1. A água faz parte do patrimônio do planeta. Cada continente, cada povo, cada região, cada cidade, cada cidadão é plenamente responsável aos olhos de todos.
2. A água é a seiva do nosso planeta. Ela é a condição essencial de vida e de todo ser vegetal, animal ou humano. Sem ela não poderíamos conceder como são a atmosfera, o clima, a vegetação, a cultura ou a agricultura. O direito à água é um dos direitos fundamentais do ser humano: o direito à vida, tal qual é estipulado no Art. 30 de Declaração Universal dos Direitos Humanos.
3. Os recursos naturais de transformação da água em água potável são lentos, frágeis e muito limitados. Assim sendo a água deve ser manipulada com racionalidade, preocupação e parcimônia.
4. O equilíbrio e o futuro de nosso planeta dependem da preservação da água e dos seus ciclos. Estes devem permanecer intactos e funcionando normalmente, para garantir a continuidade da vida sobre a Terra. Este equilíbrio depende, em particular, da preservação dos mares e oceanos por onde os ciclos começam.
5. A água não é somente uma herança dos nossos predecessores, ela é sobretudo um empréstimo aos nossos sucessores. Sua proteção constitui uma necessidade vital, assim como uma obrigação moral do Homem para as gerações presentes e futuras.
6. A água não é uma doação gratuita da natureza, ela tem um valor econômico: é preciso saber que ela é, algumas vezes, rara e dispendiosa e que pode muito bem escassear em qualquer região do mundo.
7. A água não deve ser desperdiçada, nem poluída, nem envenenada. De maneira geral, sua utilização deve ser feita com consciência e discernimento, para que não se chegue a uma situação de esgotamento ou de deterioração de qualidade das reservas atualmente disponíveis.

8. A utilização da água implica o respeito à lei. Sua proteção constitui uma obrigação jurídica para todo o homem ou grupo social que a utiliza. Esta questão não deve ser ignorada nem pelo Homem nem pelo Estado.
9. A gestão da água impõe um equilíbrio entre os imperativos de sua proteção e as necessidades de ordem econômica, sanitária e social.
10. O planejamento da gestão da água deve levar em conta a solidariedade e o consenso em razão de sua distribuição desigual sobre a Terra.

Dedico esta tese à minha esposa Enza e às minhas filhas Stefani e Stella, que me proporcionam momentos de alegria e inspiração para viver.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Associado Marcelo Zaiat, pela amizade, orientação e participação efetiva na elaboração deste trabalho.

Ao Professor Titular Eugenio Foresti pela orientação e apoio durante o desenvolvimento desse projeto, principalmente, pela possibilidade de eu fazer parte de seu competente grupo de pesquisa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo -FAPESP pelo apoio e recursos financeiros concedidos

À Graduanda (Eng. Civil) Aline C. Tavares pela amizade e auxílio na operação dos reatores e análises físico-químicas durante o desenvolvimento de seu projeto de iniciação científica.

Ao grupo de óptica do IFSC, especialmente, ao Prof. Milton Ferreira de Souza pela disponibilidade do laboratório nas análises de ângulo de contato de materiais com água e ao Eng^o. Moacir M. Araújo Jr. pelo auxílio na medição dos ângulos de contato, como parte deste trabalho.

Aos funcionários da oficina mecânica da EESC/USP pela presteza na confecção dos reatores utilizados nessa pesquisa.

A TODOS os funcionários, professores e colaboradores do Departamento de Hidráulica e Saneamento da EESC/USP que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

A TODOS os amigos do LPB pelos agradáveis momentos vividos durante o desenvolvimento desse trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE ABREVIATURAS	xiv
LISTA DE SÍMBOLOS	xvi
RESUMO	xviii
ABSTRACT	xix
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	4
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1 Origem do Enxofre e sua Utilização nas Atividades Antropogênicas.....	5
3.2 Fontes de Emissão de Sulfato e Contaminação das Águas	6
3.3 Fontes Naturais de Emissão de Sulfato	7
3.4 Emissões Antropogênicas.....	7
3.5 Fundamentos do Processo Biológico de Redução de Sulfato.....	8
3.6 Processos Biológicos de Remoção de Oxiânions de Enxofre com Oxidação Parcial de Sulfeto.....	15
3.7 Reatores Utilizados para o Tratamento Biológico Anaeróbio de Águas Residuárias Contendo Sulfato.	17
3.8 Fundamentos da Adesão Microbiana em Superfícies de Materiais Inertes.....	20
3.9 Adesão Microbiana.....	21
3.10 Interações Microbianas em Reatores Anaeróbios Tratando Águas Residuárias Contendo Sulfato	24
3.11 Efeitos do Sulfeto de Hidrogênio (H ₂ S) nos Processos Sulfetogênico e Metanogênico	26
3.12 Remoção de Sulfeto de Águas Residuárias	29
3.13 Considerações Finais	34

4	MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1	Ensaio de Imobilização da Biomassa em Materiais suporte Inertes.....	36
4.1.1	Configuração dos Reatores	36
4.1.2	Materiais Utilizados como Suporte para Imobilização de Biomassa.....	37
4.1.3	Água Residuária Sintética	38
4.1.4	Procedimento Experimental	38
4.1.5	Monitoramento e Procedimentos Analíticos.....	39
4.2	Operação dos Reatores em Batelada (ASBBR) - Processo de Biodessulfatação	40
4.2.1	Configuração dos Reatores	40
4.2.2	Materiais Suporte Utilizados para Imobilização de Microrganismos	42
4.2.3	Instalação Experimental	42
4.2.4	Água Residuária Sintética	43
4.2.5	Monitoramento e Procedimentos Analíticos.....	44
4.2.6	Ensaio Hidrodinâmico.....	48
4.2.7	Avaliação do Desempenho dos ASBBR's no Tratamento de Água Residuária Sintética com Relações DQO/SO ₄ ²⁻ de 3,2, 1,3, e 0,4.....	49
4.2.8	Avaliação do Efeito de Etanol Sobre o Processo de Biodessulfatação.....	51
4.2.9	Modelação Cinética.....	51
4.3	Oxidação Parcial do Sulfeto em Reator Aeróbio.....	53
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
5.1	Ensaio de Imobilização de Biomassa em Suportes Inertes.....	54
5.1.1	Resultados das Análises Físico-Químicas.....	54
5.1.2	Resultados dos Exames Microbiológicos	57
5.1.3	Resultados da Análise das Superfícies dos Materiais suporte e Biomassa – Medição do Ângulo de Contato com Água	74
5.1.4	Considerações gerais.....	75
5.2	Ensaio Hidrodinâmicos nos Reatores Operados em Bateladas Seqüenciais.....	76
5.3	Desempenho do Reator com Espuma de Poliuretano (RE) no Tratamento de Meio Sintético com Relações DQO/[SO ₄ ²⁻] iguais a 3,2, 1,3 e 0,4.....	84
5.3.1	Alimentação com Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] Igual a 3,2	84
5.3.2	Alimentação com Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] Igual a 1,3.	86
5.3.3	Alimentação com Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] Igual a 0,4.	87

5.3.4	Considerações Gerais sobre o Estudo do Processo de Biodessulfatação em ASBBR Utilizando Espuma de Poliuretano como Material Suporte	88
5.4	Desempenho do Reator com Carvão Vegetal (RC) no Tratamento de Meio Sintético com Relações DQO/[SO ₄ ²⁻] Iguais a 3,2, 1,3 e 0,4.	90
5.4.1	Alimentação com Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] Igual a 3,2	90
5.4.2	Alimentação com Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] Igual a 1,3	92
5.4.3	Alimentação com Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] Igual a 0,4	93
5.5	Considerações Gerais Sobre o Estudo do Processo de Biodessulfatação em ASBBR Utilizando Carvão Vegetal como Material Suporte	94
5.6	Comparação do Desempenho dos Reatores com Espuma de Poliuretano e Carvão Vegetal.	95
5.7	Retenção de Biomassa e Aspectos Microbiológicos	96
5.7.1	Biomassa no Inóculo	96
5.7.2	Biomassa no Reator com Espuma de Poliuretano	98
5.7.3	Biomassa no Reator com Carvão Vegetal.....	103
5.8	Avaliação do Efeito da Adição de Etanol no Meio Sintético Afluente	108
5.8.1	Adição de Etanol em Quantidade Estequiométrica em Relação à [SO ₄ ²⁻].....	108
5.8.2	Adição de Etanol em Quantidade Correspondendo ao Dobro da Estequiométrica	112
5.9	Modelação Cinética – Alimentação dos Reatores com Meio Sintético com Relações DQO/[SO ₄ ²⁻] Igual a 3,2, 1,3, e 0,4.....	115
5.9.1	Reator com Espuma de Poliuretano (RE) Tratando Meio Sintético com Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] Igual a 3,2	117
5.9.2	Reator com Espuma de Poliuretano (RE) Alimentado com Meio Sintético com Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] Igual a 1,3	120
5.9.3	Reator com Espuma de Poliuretano (RE) Alimentado com Meio Sintético com Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] Igual a 0,4	123
5.9.4	Reator com Carvão Vegetal (RC) Tratando Meio Sintético com Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] Igual a 3,2	126
5.9.5	Reator com Carvão Vegetal (RC) Alimentado com Meio Sintético com Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] Igual a 1,3	128

5.9.6	Reator com Carvão Vegetal (RC) Alimentado com Meio Sintético com Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] Igual a 0,4	131
5.9.7	Considerações Gerais Sobre a Modelação Cinética.....	133
5.10	Modelação Cinética – Alimentação dos Reatores com Meio Sintético com Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] Igual a 0,4 e com Adição de Etanol.....	138
5.10.1	Reator com Espuma de Poliuretano (RE)	138
5.11	Oxidação Parcial do Sulfeto em Reator Aeróbio.....	142
6	CONCLUSÕES	149
7	RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS ENVOLVENDO O PROCESSO DE BIODISSULFURIZAÇÃO (REMOÇÃO DE SULFATO E SULFETO).....	152
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	153

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Formas de Enxofre Encontradas na Natureza: a. Enxofre nativo; b. Sulfeto de ferro (pirita); c. Sulfito de ferro (pirrotita). (Fonte: CDCC/USP)	6
Figura 3.2. Balanço das Emissões Naturais e Antropogênicas de Enxofre (Adaptado de MADGAN <i>et al.</i> , 1997).....	6
Figura 3.3. Redução Desassimilativa do Íon Sulfato (MADIGAN <i>et al.</i> , 1997)	8
Figura 3.4. Esquema de Operação do ASBR com Recirculação do Biogás. (1) Reator, (2) Aspiração do Biogás, (3) Frasco p/ observação (4) Absorção de H ₂ S, (5) Medidor de Biogás. B1, B2 e B3, correspondem aos bombeamentos de gás, efluente e afluente, respectivamente (Adaptado de Zaiat <i>et al.</i> , 2001).	19
Figura 3.5. Ciclo Biológico do Enxofre (Adaptado de JANSEN <i>et al.</i> , 1999).	31
Figura 3.6. Esquema de reator de leito expandido com unidade de aeração externa, utilizado para oxidação parcial de sulfeto e recuperação de enxofre elementar (JANSSEN <i>et al.</i> , 1999).....	33
Figura 4.1. Reator Diferencial (Adaptado por RIBEIRO, 2001)	37
Figura 4.2. Instalação Experimental para Ensaaios em Reatores Diferenciais:.....	39
Figura 4.3. Reator Anaeróbio Utilizado para Operação em Bateladas Sequenciais e com Biomassa Imobilizada em Material Suporte Inerte.	42
Figura 4.4. Instalação Experimental – ASBBR	43
Figura 4.5. Lâmina de Vidro Revestida com Teflon Utilizada na Técnica de FISH.	46
Figura 4.6. Aparato para Captação e Medição de Volume dos Gases dos ASBBR.	50
Figura 4.7. Rota de Degradação de Compostos Orgânicos Monoméricos em Ambiente Anaeróbio com Presença de Sulfato (Adaptado de COLLERAN, 1995).	52
Figura 5.1. Concentração de Biomassa Aderida por mg de PU (Concentração Específica) nos Reatores Diferenciais.....	56
Figura 5.2. Concentração Específica de Biomassa em: (a) CV, (b) CE e, (c) PE nos Reatores Diferenciais.	56

Figura 5.3. Concentração Absoluta de Biomassa (STV) nos Reatores Diferenciais.	57
Figura 5.4. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica, Luz Comum e Fluorescência, no Lodo Utilizado como Inóculo. (a) Filamentos Semelhantes a <i>Methanosaeta sp.</i> ; (b) Arranjo semelhante a <i>Methanosarcina sp.</i>	58
Figura 5.5. Composição da Comunidade Microbiana Determinada por FISH em Amostra do Lodo Utilizado como Inóculo. (HIRASAWA, 2003).	59
Figura 5.6. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica de Luz Comum e Fluorescência em Matrizes de PU Colonizadas Após 7 Dias de Operação. Bacilos Curtos com Extremidades Arredondadas, Bacilos com Extremidades Afiladas, Víbrios, Cocos e Bacilos Fluorescentes e Cocos Formando Arranjos Semelhantes a <i>Methanosarcina sp.</i>	60
Figura 5.7. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica, Luz Comum e Fluorescência, em PU Após 14 Dias de Operação. Predomínio de Bacilos com Extremidades Arredondadas e Presença de Bacilos Fluorescentes.....	61
Figura 5.8. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica, Luz Comum e Fluorescência, em Matrizes de PU Após 21 Dias de Operação do Reator. Filamentos Semelhantes a <i>Methanosaeta sp.</i> , Bacilos com Extremidades Arredondadas, Víbrios e Bacilos Fluorescentes.....	61
Figura 5.9. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica, Contraste de Fase e Fluorescência, em Matrizes de PU Após 28 Dias de Operação do Reator. Filamentos Semelhantes a <i>Methanosaeta sp.</i> , Bacilos com Extremidades Arredondadas e Cocos Formando Arranjos Semelhantes a <i>Methanosarcina sp.</i>	62
Figura 5.10. Morfologias Observadas em PU. Após 7, 14, 21 e 28 Dias de Operação dos Reatores. Predomínio de Bacilos Curtos, com Extremidades Arredondadas, Presença de Víbrios e Cocos Formando Arranjos Semelhantes a <i>Methanosarcina.sp.</i> e Filamentos Semelhantes a <i>Methanosaeta sp.</i>	62
Figura 5.11. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica, Luz Comum e Fluorescência, em Matrizes de CV Após 7 Dias de Operação do Reator. Filamentos Semelhantes a <i>Methanosaeta sp.</i> , Bacilos com Extremidades Arredondadas, Células Ovóides, Bacilos Fluorescentes e Arranjos Semelhantes a <i>Methanosarcina sp.</i>	63

- Figura 5.12. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica, Luz Comum e Fluorescência, em Matrizes de CV Após 14 Dias de Operação do Reator. Bacilos com Extremidades Arredondadas, Células Ovóides, Arranjos Semelhantes a *Methanosarcina sp.*.....64
- Figura 5.13. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica Utilizando Luz Comum e com Fluorescência em Matrizes de CV Colonizadas Após 21 Dias de Operação (Arranjos Semelhantes a *Methanosarcina sp.*, Bacilos Com Extremidades Arredondadas, Bacilos com Extremidades Afiladas, Células Ovóides.65
- Figura 5.14. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica, Utilizando Luz Comum e Fluorescência, em Matrizes de CV Após 28 Dias de Operação do Reator. Arranjos Semelhantes a *Methanosarcina sp.*, Bacilos com Extremidades Arredondadas, Bacilos com Extremidades Afiladas, Células Ovóides, Filamentos Semelhantes a *Methanosaeta sp.* e Bacilos Fluorescentes.....65
- Figura 5.15. Morfologias Observadas por Microscopia Eletrônica de Varredura em Amostras de CV Após 7, 14, 21 e 28 Dias de Operação dos Reatores. Predomínio de Bacilos com Extremidades Arredondadas e Células Ovóides e, Presença de Cocos Formando Cadeias e Víbrios.....66
- Figura 5.16. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica Utilizando Luz Comum e Fluorescência, em Matrizes de PE, Após 7 Dias de Operação do Reator. Filamentos Semelhantes a *Methanosaeta sp.*, Bacilos Fluorescentes, Víbrios, Bacilos Curtos com Extremidades Arredondadas e Células Ovóides.....67
- Figura 5.17. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica, Utilizando Luz Comum e Fluorescência, em Matrizes de PE Após 14 Dias de Operação do Reator. Arranjos Semelhantes a *Methanosarcina sp.*.....68
- Figura 5.18. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica, Utilizando Luz Comum e Fluorescência, em Matrizes de PE Após 21 Dias de Operação do Reator. Arranjos Semelhantes a *Methanosarcina sp.*, Filamentos Semelhantes a *Methanosaeta sp.*, Bacilos com Extremidades Arredondadas e Diplococos.68
- Figura 5.19. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica, Utilizando Luz Comum e Fluorescência, em Matrizes de PE Após 28 Dias de Operação do Reator. Arranjos Semelhantes a *Methanosarcina sp.*, Filamentos Semelhantes a

<i>Methanosaeta sp.</i> , Bacilos com Extremidades Arredondadas, Víbrios, e Células Ovóides.	69
Figura 5.20. Morfologias Observadas em Matrizes de Polietileno de Baixa Densidade Após 7, 14, 21 e 28 Dias de Operação do Reator. Predomínio de Morfologias Semelhantes a <i>Metanosarcina sp.</i> e Presença de Bacilos com Extremidades Arredondadas, e Células Ovóides.	69
Figura 5.21. Morfologias Observadas por Microscopia Ótica, Utilizando Luz Comum e Fluorescência, em Matrizes de CE Após 7 Dias de Operação. Arranjos Semelhantes a <i>Methanosarcina sp.</i> , Filamentos Semelhantes a <i>Methanosaeta sp.</i> e Bacilos Fluorescentes.	71
Figura 5.22. Morfologias Observadas por Microscopia Ótica, Contraste de Fase e Fluorescência, em Matrizes de CE Após 14 Dias de Operação. Arranjos Semelhantes a <i>Methanosarcina sp.</i> , Filamentos Semelhantes a <i>Methanosaeta sp.</i> , Bacilos Fluorescentes, Víbrios, Bacilos Curtos com Extremidades Arredondadas, Células Ovóides e Bacilos em Cadeia.	71
Figura 5.23. Morfologias Observadas por Microscopia Ótica, Utilizando Luz Comum e Fluorescência, em Matrizes de CE Após 21 Dias de Operação do Reator. Arranjos Semelhantes a <i>Methanosarcina sp.</i> , Bacilos Fluorescentes, Víbrios, Bacilos Curtos com Extremidades Arredondadas e Células Ovóides.....	72
Figura 5.24. Morfologias Observadas por Microscopia Ótica, Utilizando Luz Comum e Fluorescência, em Matrizes de CE Após 28 Dias de Operação do Reator. Arranjos Semelhantes a <i>Methanosarcina sp.</i> , Filamentos Semelhantes a <i>Methanosaeta sp.</i> , Bacilos Fluorescentes, Víbrios, Bacilos Curtos com Extremidades Arredondadas e Células Ovóides.	72
Figura 5.25. Morfologias Observadas em CE, Após 7, 14, 21 e 28 Dias de Operação do Reator: Predomínio de Bacilos com Extremidades Arredondadas, Presença de Víbrios, Células Ovóides e <i>Methanosaeta Sp.</i>	73
Figura 5.26. Composição da Comunidade Microbiana, Determinada por Meio de FISH em Amostras de Matrizes Colonizadas nos Reatores Após: 7, 14, 21 E 28 Dias de Operação com (A) PU, (B) CV, (C) PE e (D) CE. Porcentagens Relativas de Células Pertencentes aos Domínios: <i>Bacteria</i> (EUB338), BRS	

(SRB385) e <i>Arqueas</i> (ARC915). As Barras de Erros Indicam os Erros-Padrão (HIRASAWA, 2003).	74
Figura 5.27. Ajuste Médio do Modelo de Boltzmann aos Valores Normalizados dos Dados Experimentais, Obtidos no Perfil Hidrodinâmico do Reator Preenchido com CV Sob Frequência de Agitação de 90 rpm.	77
Figura 5.28. Ajuste Médio d Modelo de Boltzmann aos Valores Normalizados dos Dados Experimentais, Obtidos no Perfil Hidrodinâmico do Reator Preenchido com CV Sob Frequência de Agitação de 180 rpm.	78
Figura 5.29. Ajuste Médio do Modelo de Boltzmann aos Valores Normalizados dos Dados Experimentais Obtidos no Perfil Hidrodinâmico do Reator Preenchido com CV Sob Frequência de Agitação de 300 rpm.	78
Figura 5.30. Ajuste Médio do Modelo de Boltzmann aos Valores Normalizados dos Dados Experimentais, Obtidos no Perfil Hidrodinâmico do Reator Preenchido com CV Sob Frequência de Agitação de 500 Rpm.	79
Figura 5.31. Ajuste Médio do Modelo de Boltzmann aos Valores Normalizados dos Dados Experimentais, Obtidos no Perfil Hidrodinâmico do Reator Preenchido com CV Sob Frequência de Agitação de 800 rpm.	79
Figura 5.32. Ajuste Médio Do Modelo de Boltzmann aos Valores Normalizados dos Dados Experimentais, Obtidos no Perfil Hidrodinâmico do Reator Preenchido com PU Sob Frequência de Agitação de 90 rpm.	80
Figura 5.33. Ajuste Médio do Modelo de Boltzmann aos Valores Normalizados dos Dados Experimentais, Obtidos no Perfil Hidrodinâmico do Reator Preenchido com PU Sob Frequência de Agitação de 180 rpm.	80
Figura 5.34. Ajuste Médio do Modelo de Boltzmann aos Valores Normalizados dos Dados Experimentais, Obtidos no Perfil Hidrodinâmico do Reator Preenchido com PU Sob Frequência de Agitação de 300 rpm.	81
Figura 5.35. Ajuste Médio do Modelo de Boltzmann aos Valores Normalizados dos Dados Experimentais, Obtidos no Perfil Hidrodinâmico do Reator Preenchido com PU Sob Frequência de Agitação de 500 rpm.	81
Figura 5.36. Ajuste Médio do Modelo de Boltzmann aos Valores Normalizados dos Dados Experimentais, Obtidos no Perfil Hidrodinâmico do Reator Preenchido com PU Sob Frequência de Agitação de 800 rpm.	82

Figura 5.37. Tempo de Mistura em Função da Frequência de Agitação.	83
Figura 5.38. Eficiências de Remoção de Sulfato e DQO no Reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com	85
Figura 5.39. DQO e Concentrações de Ácidos Totais Voláteis no Efluente do Reator Contendo Espuma de Poliuretano, Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2.....	85
Figura 5.40. Eficiências de Remoção de Sulfato e de DQO no Reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 1,3.....	87
Figura 5.41. Eficiências de Remoção de Sulfato e de DQO no Reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4.....	88
Figura 5.42. Eficiências em Remoção de Sulfato e de DQO no Reator com Carvão Vegetal Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2.....	90
Figura 5.43. Valores de DQO e Concentração de Ácidos Totais Voláteis em Função dos Ciclos Operacionais do Reator RC Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2.....	91
Figura 5.44. Eficiências em Remoção de Sulfato e de DQO no Reator com Carvão Vegetal Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 1,3.....	92
Figura 5.45. Eficiências em Remoção de Sulfato e de DQO no Reator com Carvão Vegetal Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4.....	93
Figura 5.46. Morfologias Semelhantes a Arqueas Metanogênicas, Observadas no Inóculo por Microscopia Ótica. (A) Arranjos Semelhantes a <i>Methanosarcina</i> sp. Observados a Luz Comum; (B) Arranjos Semelhantes a <i>Methanosarcina</i> sp. e Bacilos Observados com Fluorescência.....	97
Figura 5.47. Morfologias Observadas por Microscopia Ótica com Luz Comum no Inóculo. (A) Filamentos Semelhantes a <i>Methanosaeta</i> .sp., Bacilos com Extremidades Arredondadas. (B) Bacilos Ovalados, Cocos, Bacilos Curvos (Vibrios).....	97
Figura 5.48. Composição da comunidade microbiana presente no inóculo. As porcentagens celulares são representadas pela quantidade de RNAr 16S microbiano para os membros pertencentes ao Domínios <i>Bactéria</i> (EUB338) e <i>Archaea</i> (Arc915).....	98

- Figura 5.49. Morfologias Observadas em PU. (A) Tratamento do meio sintético com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2: bacilos curvos, bacilos delgados, bacilos ovalados, cocos, filamento semelhante a *Methanosaeta sp.*. (B) Tratamento do meio sintético com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 1,3: bacilos com extremidades afiladas, bacilos curvos, bacilos ovalados, bacilos com grânulos, cocos. (C) Tratamento do meio sintético com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4: víbrios..... 101
- Figura 5.50. Porcentagem de Eubactérias, Bactérias Redutoras de Sulfato, e Arqueas Metanogênicas Detectadas por FISH na Biomassa Imobilizada em Espuma de Poliuretano, Após o Tratamento de Água Residuária Sintética com 102
- Figura 5.51. Porcentagem de Eubactérias e Bactérias Redutoras de Sulfato Detectadas por FISH na Biomassa Imobilizada em Espuma de Poliuretano, Após o Tratamento de Água Residuária Sintética com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ Igual a 0,4. 103
- Figura 5.52. Morfologias Observadas em Carvão Vegetal. (A) Etapa de operação tratando meio sintético com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2: bacilos curvos, bacilos delgados, bacilos ovalados, cocos. (B) Etapa de operação tratando meio sintético com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 1,3: bacilos curvos, bacilos ovalados. (C) Etapa de operação tratando meio sintético com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4: víbrios e cocos..... 106
- Figura 5.53. Porcentagem de Eubactérias, Bactérias Redutoras de Sulfato, e Arqueas Metanogênicas Detectadas por FISH na Biomassa Imobilizada em Carvão Vegetal, Após o Tratamento de Água Residuária Sintética com 107
- Figura 5.54. Porcentagem de Eubactérias e Bactérias Redutoras de Sulfato Detectadas por FISH na Biomassa Imobilizada em Carvão Vegetal, Após o Tratamento de Água Residuária Sintética com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ Igual a 0,4. 108
- Figura 5.55. Diagrama do Modelo Cinético Simplificado para Descrição das Rotas de Utilização de Substratos Orgânicos em Reatores Anaeróbios com Presença de Sulfato. 115
- Figura 5.56. Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais das Variáveis: CS1, CS2 e CS3 no Reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2. (T) indica os valores calculados pelo modelo e (E) indica os valores empíricos. 118

Figura 5.57. Perfil Temporal das Velocidades Aparentes, de Consumo de Substratos Orgânicos, no Reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2.....	120
Figura 5.58. Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais das Variáveis: DQO, Ácido Acético como DQO e Sulfato no Reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 1,3.....	122
Figura 5.59. Perfil das Velocidades Aparentes, de Consumo de Substratos Orgânicos, no Reator com Espuma de Poliuretano (RE) Tratando Meio Sintético com	123
Figura 5.60. Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais das Variáveis: CS1, CS2 e CS3 no Reator com Espuma de Poliuretano (RE) Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4.....	124
Figura 5.61. Perfil Temporal das Velocidades de Consumo de Substratos Orgânicos no Reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4.....	125
Figura 5.62. Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais das Variáveis: CS1, CS2 e CS3 no Reator com Carvão Vegetal (RC) Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2.	127
Figura 5.63. Perfil das Velocidades de Consumo de Substratos Orgânicos no Reator com Carvão Vegetal (RC) Tratando Meio Sintético com.....	128
Figura 5.64. Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais das Variáveis: S1, S2 e S3 no Reator com Carvão Vegetal (RC) Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 1,3.....	129
Figura 5.65. Perfis Temporais das Velocidades de Consumo de Substratos Orgânicos no Reator com Carvão Vegetal Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 1,3.....	130
Figura 5.66. Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais das Variáveis: CS1, CS2, e CS3 no Reator com Carvão Vegetal (RC) Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4.	132
Figura 5.67. Perfil das Velocidades de Consumo de Substratos Orgânicos no Reator com Carvão Vegetal (RC) Tratando Meio Sintético com.....	133

Figura 5.68. Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais das Variáveis: CS1, CS2 e CS3 no Reator com Espuma de Poliuretano (RE) Tratando Meio Sintético com Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] igual a 0,4 e Etanol.....	139
Figura 5.69. Perfil Temporal da Velocidade Aparente, de Consumo de Substratos Orgânicos (r_{ap}) no Reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] igual a 0,4.	140
Figura 5.70. Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais das Variáveis: DQO, Hac como DQO e Sulfato no Reator com Carvão Vegetal Tratando Meio Sintético com Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] igual a 0,4.	141
Figura 5.71. Perfil da Velocidades de Utilização de S1 por BRS no Reator com Carvão Vegetal Tratando Meio Sintético com Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] igual a 0,4.	142
Figura 5.72. Concentração de Sulfato nos Reatores Sulfetogênico (R1) e Aeróbio (R2) ao Longo dos Ciclos Realizados.	144
Figura 5.73. Concentração de Sulfeto nos Reatores Sulfetogênico (R1) e Aeróbio (R2), e da Eficiência em Remoção de Sulfeto no Reator Aeróbio (ER2) ao Longo dos Ciclos Realizados.	144
Figura 5.74. Ajuste de Modelo Cinético de Primeira Ordem aos Valores de Concentração de Sulfeto Total Obtidos no Perfil Temporal do Reator R2.....	145
Figura 5.75. Intensidade da Quantidade de Energia Detectada pelo Equipamento de EDXRF em Amostras Coletadas na Altura Superior do Reator.	146
Figura 5.76. Intensidade da Quantidade de Energia Detectada pelo Equipamento de EDXRF em Amostras Coletadas na Altura Central do Reator.	147
Figura 5.77. Intensidade da Quantidade de Energia Detectada pelo Equipamento de EDXRF em Amostras Coletadas na Altura Inferior do Reator.....	147
Figura 5.78. Reator Sulfetogênico, ASBBR (1) e Reator Aeróbio, SBBR (2).	148

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1. Características dos Materiais Suporte	37
Tabela 4.2. Sondas de Oligonucleotídeos Utilizadas na Hibridação <i>in situ</i>	45
Tabela 4. 3. Protocolos de hibridação.	48
Tabela 5.1. Valores de DQO obtidos ao final das bateladas. Os valores das eficiências em remoção de DQO (%) são apresentados entre parênteses.....	54
Tabela 5.2. Concentrações de Sulfato no Efluente dos Reatores Diferenciais.	55
Tabela 5. 3. Caracterização Morfológica do Inóculo por Microscopia Ótica.....	58
Tabela 5.4. Caracterização Morfológicas dos Microrganismos Aderidos em Espuma de Poliuretano	60
Tabela 5.5. Caracterização Morfológica dos Microrganismos Aderidos em CV	64
Tabela 5.6. Caracterização Morfológica dos Microrganismos Aderidos em Polietileno de Baixa Densidade (Reciclado).....	67
Tabela 5.7. Caracterização Morfológica dos Microrganismos Aderidos em Cerâmica Porosa Confeccionada com Alumina	70
Tabela 5.8. Valores da Constante de Tempo (τ), do Centro da Sigmóide (t_0) e do Tempo de Mistura (t_m), Calculados pelo Modelo de Boltzmann, para as Velocidades de Agitação Aplicadas ao Reator Contendo CV.	82
Tabela 5.9. Valores da Constante de Tempo (τ), do Centro da Sigmóide (t_0) e do Tempo de Mistura (t_m), Calculados pelo Modelo de Boltzmann, para as Velocidades de Agitação Aplicadas ao Reator Contendo PU.....	83
Tabela 5.10. Valores Médios das Variáveis Monitoradas no Efluente do Reator Contendo Espuma de Poliuretano como Material Suporte.	89
Tabela 5.11. Valores Médios das Variáveis Monitoradas no Efluente do Reator Contendo Carvão Vegetal como Material Suporte.	94
Tabela 5.12. Morfologias Observadas no Inóculo e Frequências.	96
Tabela 5.13. Quantificação da Biomassa Aderida em Espuma de Poliuretano no ASBBR.....	99

Tabela 5.14. Morfologias Observadas em Espuma de Poliuretano e suas Frequências.	100
Tabela 5.15. Quantificação da Biomassa Aderida em Carvão Vegetal no ASBBR	104
Tabela 5.16. Morfologias Observadas em Carvão Vegetal no Final do Tratamento de Meio Sintético com Relação DQO/[SO ₄ ²⁻]: 3,2, 1,3, e 0,4.	105
Tabela 5.17. Valores das Variáveis Químicas Monitoradas no Afluente dos Reatores Alimentados com Meio Sintético com Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] igual a 0,4 e Etanol em Quantidade Estequiométrica.	109
Tabela 5.18. Valores das Variáveis Monitoradas no Efluente do Reator com Espuma de Poliuretano Alimentado com Meio Sintético e Etanol Sendo Adicionado em Quantidade Estequiométrica Relacionada a Concentração de Sulfato.	110
Tabela 5.19. Valores das Variáveis Monitoradas no Reator com Carvão Vegetal (RC) Alimentado com Meio Sintético e Etanol Sendo Adicionado em Quantidade Estequiométrica Relacionada a Concentração de Sulfato.	111
Tabela 5.20. Valores das Variáveis Químicas Monitoradas no Afluente dos Reatores Alimentados com Meio Sintético com Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] igual a 0,4 e Etanol em Quantidade Correspondente ao Dobro da Estequiométrica.	113
Tabela 5.21. Valores das Variáveis Monitoradas no Efluente do Reator com Espuma de Poliuretano Alimentado com Meio Sintético e Etanol Sendo Adicionado em Quantidade Correspondente ao Dobro da Estequiométrica em relação a [SO ₄ ²⁻]. ..	113
Tabela 5.22. Valores das Variáveis Monitoradas no Efluente do Reator com Carvão Vegetal Alimentado com Meio Sintético e Etanol Sendo Adicionado em Quantidade Correspondente ao Dobro da Estequiométrica em relação a [SO ₄ ²⁻]. ..	114
Tabela 5.23. Perfil Temporal das Variáveis: CS1, CS2 e CS3 no reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] igual a 3,2....	117
Tabela 5.24. Valores das Constantes Cinéticas Calculados pelo Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais	119
Tabela 5. 25. Perfis Temporais das Variáveis: CS1, CS2, e CS3 no Reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] igual a 1,3.....	121
Tabela 5.26. Valores das Constantes Cinéticas Calculados pelo Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais	122

Tabela 5.27. Perfil Temporal das Variáveis: CS1, CS2, e CS3, no Reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4.....	124
Tabela 5.28. Valores das Constantes Cinéticas Calculados pelo Ajuste do Modelo aos Valores Medidos nos Perfis Temporais	125
Tabela 5.29. Perfil Temporal das Variáveis Representadas por CS1, CS2, e CS3 no Reator com Carvão Vegetal (RC) Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2.....	126
Tabela 5.30. Valores das Constantes Cinéticas Calculados pelo Ajuste do Modelo Cinético aos Valores das Variáveis Representadas por CS1, CS2, e CS3, Obtidos em Perfis Temporais no Reator com Carvão Vegetal Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4]$ igual a 3,2.	127
Tabela 5. 31. Perfil Temporal das Variáveis: CS1, CS2 e CS3 no Reator com Carvão Vegetal (RC) Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 1,3.....	129
Tabela 5.32. Valores das Constantes Cinéticas Calculados pelo Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais	130
Tabela 5. 33. Perfil Temporal das Variáveis: CS1, CS2 e CS3 no Reator com Carvão Vegetal (RC) Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4.....	131
Tabela 5.34. Valores das Constantes Cinéticas Calculados pelo Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais no Reator com Carvão Vegetal Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4.....	132
Tabela 5.35. Comparação dos Parâmetros Cinéticos Determinados para o ASBBR Contendo Espuma de Poliuretano Tratando Água Residuária Sintética com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2, 1,3, e 0,4.	134
Tabela 5.36. Comparação dos Parâmetros Cinéticos Determinados para o ASBBR Contendo Carvão Vegetal Tratando Água Residuária Sintética com Relação	136
Tabela 5.37. Perfil Temporal das Variáveis: CS1, CS2, e CS3 no Reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com Relação.....	138
Tabela 5.38. Valores das Constantes Cinéticas Calculados pelo Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais no Reator RE Alimentado com Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4 e Etanol.	139

Tabela 5.39. Perfil Temporal das Variáveis: CS1, CS2 e CS3 no Reator com Carvão Vegetal Tratando Meio Sintético com Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] igual a 0,4 e Etanol.	141
Tabela 5.40. Valores das Constantes Cinéticas Calculados pelo Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais	142
Tabela 5.41. Valores das Variáveis: [SO ₄ ²⁻], [ST] e OD nos reatores ASBBR (R1) e SBBR (R2)	143
Tabela 5.42. Porcentagem em massa dos Elementos Detectados por EDXRF nos Sólidos Retidos em Espuma de Poliuretano.....	148

LISTA DE ABREVIATURAS

AB	- Alcalinidade a Bicarbonato	mg.L ⁻¹
AM	- Arqueas Metanogênicas	
APS	- Adenosina fosfossulfato	
ASBR	- Reator Anaeróbio de Batelada Seqüencial	
ASBBR	- Reator Anaeróbio de Batelada Seqüencial com	
ASF	Biomassa Imobilizada	
	- Fatores de Adesão e Difusão	
AT	- Alcalinidade Total	mg.L ⁻¹
ATP	-Adenosina Trifosfato	
ATV	- Ácidos Totais Voláteis	mg.L ⁻¹
BRS	- Bactérias Redutoras de Sulfato	
BAPH	- Bactérias Acidogênicas Produtoras de Hidrogênio	
BAP	- Bactérias Acidogênicas Produtoras de Ácido Propiônico	
BSA	- Bactérias Sintróficas Acetogênicas	
CE	- Cerâmica Porosa Confeccionada com Alumina	
CV	- Carvão Vegetal	
CDCC	- Centro de Divulgação Científica e Cultural/USP	
DAPI	4',6-diamidino-2-fenil indol	
DNPM	- Departamento Nacional de Pesquisa Mineral	
DQO	- Demanda Química de Oxigênio	mg.L ⁻¹
EESC	- Escola de Engenharia de São Carlos	
EDXRF	- Fluorescência de Raios X com Dispersão de Energia	
FISH	- Hibridização <i>In Situ</i> Fluorescente	
Hac	- Ácido Acético	mg.L ⁻¹
IC50	- Concentração Inibitória de 50% da população de uma	

	espécie de organismo vivo	
IFSC	- Instituto de Física de São Carlos	
LPB	- Laboratório de Processos Biológicos	
MEV	- Microscopia Eletrônica de Varredura	
MS	- Material Suporte	
PAPS	- Fosfoadenosina Fosfossulfato	
PE	- Polietileno de baixa densidade reciclado	
PU	- Espuma de Poliuretano	
RC	- Reator Preenchido com Carvão Vegetal	
RE	- Reator Preenchido com Espuma de Poliuretano	
SBR	- Reator de Batelada Seqüencial	
SBBR	- Reator de Batelada Seqüencial com Biomassa Imobilizada	
SD	- Sulfeto Dissolvido	mg.L ⁻¹
SRB	- Sulphate Reducing Bacteria	
STV	- Sólidos Totais Voláteis	mg.L ⁻¹
STF	- Sólidos Totais Fixos	mg.L ⁻¹
ST*	- Sólidos Totais	mg.L ⁻¹

LISTA DE SÍMBOLOS

W	- Trabalho de adesão	$N.m^2$
k_I	- Constante de equilíbrio para ionização do sulfeto de hidrogênio	
k_{1A}	- Constante cinética de utilização de matéria orgânica adicionada, por bactérias acidogênicas	h^{-1}
k_{1S}	Constante cinética de utilização de matéria orgânica adicionada, por bactérias redutoras de sulfato oxidadoras incompletas	$L.mg^{-1}.h^{-1}$
k_{2S}	Constante cinética de utilização de matéria orgânica adicionada por bactérias redutoras de sulfato oxidadoras completas	$L.mg^{-1}.h^{-1}$
k_{3S}	Constante cinética de utilização de acetato por bactérias redutoras de sulfato	$L.mg^{-1}.h^{-1}$
k_{3M}	Constante cinética de utilização de acetato por arqueas metanogênicas	h^{-1}
S_1	Representa a Matéria Orgânica adicionada, expressa em DQO, no modelo cinético proposto neste trabalho.	$mg.L^{-1}$
S_2	Representa a concentração de ácido acético expressa em DQO, no modelo cinético proposto neste trabalho	$mg.L^{-1}$
S_3	Representa a concentração de sulfato no modelo cinético proposto neste trabalho	$mg.L^{-1}$
σ_a	- Tensão na superfície de um corpo “a”	$N.m^{-1}$
σ_b	- Tensão na superfície de um corpo “b”	$N.m^{-1}$
σ_{ab}	- Tensão na interface por unidade de área de contato de dois corpos “a” e “b”	$N.m^{-2}$

σ_{ah}	- Tensão superficial do corpo “a” a distância h do corpo “b”	N
σ_{bh}	- Tensão superficial do corpo “b” a distância h do corpo “a”	N
σ_c	- Tensão superficial crítica definida quando um líquido-padrão molha uma superfície com ângulo de contato zero	mN.m ⁻¹
σ_{SV}	- Energia livre interfacial, na interface sólido-vapor	N.m ⁻¹
σ_{SL}	- Energia livre interfacial, na interface sólido-líquido	N.m ⁻¹
σ_{LV}	- Energia livre interfacial, na interface líquido-vapor	N.m ⁻¹
θ	- Ângulo de Contato	°
θ_c	- Tempo de retenção celular	d
τ	- Constante de tempo (Modelo de Crescimento Sigmoidal - Boltzman).	
t_0	- ponto de inflexão da sigmóide no modelo de Boltzman	h
t_M	- Tempo de mistura	h

RESUMO

SILVA, A. J. (2005). *Biodessulfatação com posterior oxidação parcial do sulfeto em reatores operados em bateladas seqüenciais*. São Carlos, 159 p.. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

Em reatores biológicos anaeróbios adequadamente projetados, SO_4^{2-} pode ser reduzido a sulfeto pelas bactérias redutoras de sulfato (BRS), o qual, posteriormente, pode ser oxidado a enxofre elementar, em presença de baixas concentrações de oxigênio dissolvido ($\leq 0,1 \text{ mg.L}^{-1}$). Na presente tese, o processo de biodessulfatação foi estudado em reatores anaeróbios operados em bateladas seqüenciais, com biomassa imobilizada em espuma de poliuretano (PU) e em carvão vegetal (CV), previamente selecionados por testes de adesão microbiana em reatores diferenciais. Posteriormente, avaliou-se o efeito de etanol sobre o desempenho do processo de biodessulfatação. As principais rotas de utilização de substratos orgânicos pelos microrganismos foram identificadas por meio de modelação cinética. A comunidade microbiana foi avaliada por hibridação *in situ* com fluorescência (FISH). Após o processo de biodessulfatação, avaliou-se o processo de oxidação parcial do sulfeto, em reator aeróbio operado em bateladas seqüenciais, com biomassa imobilizada em PU. Concluiu-se por FISH que as características intrínsecas dos materiais suportes influenciam o equilíbrio microbiano. A relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ igual a 1,3 representou a melhor condição para o processo de biodessulfatação, com PU e com CV como materiais suporte, com eficiência média em redução de sulfato igual a 96%. A adição de etanol melhorou o processo de redução de sulfato. Sulfeto gerado no processo de biodessulfatação foi oxidado parcialmente a enxofre elementar, com eficiência de remoção de 80% no reator aeróbio.

Palavras-chave: Águas residuárias; remoção de sulfato; reatores anaeróbios; processos biológicos; oxidação de sulfeto; Título.

ABSTRACT

SILVA, A. J. (2005). *Biological sulphate removal with partial oxidation of sulfide in sequential batch reactors*. São Carlos, 182 p.. Thesis (Doctorate) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

In anaerobic biological systems for wastewater treatment well-designed sulphate can be reduced to sulfide by sulphate-reducing bacteria (SRB), and it can be subsequently oxidized to elemental sulphur, under low dissolved oxygen concentration ($\leq 0.1 \text{ mg.L}^{-1}$). The present thesis evaluates the microbial sulphate reduction process in anaerobic sequencing batch biofilm reactors with immobilized biomass in polyurethane foam (PU) and vegetable coal (CV). Such support materials were previously selected by microbial adhesion tests executed in differential reactors. Afterwards, the effect of ethanol addition on the performance of sulphate reduction process was assessed. The main metabolic pathways of organic substrate utilization by microorganisms were identified by kinetic modelation. The microbial community was evaluated by fluorescence *in situ* hybridization (FISH). The partial sulfide oxidation process was also evaluated in aerobic sequencing batch reactor containing biomass immobilized in PU matrices. It was concluded by FISH that characteristics of the support materials has influence on the microbial equilibrium. The COD/[SO₄²⁻] ratio equal to 1.3 provided the best condition for microbial sulphate reduction process in both reactors with mean efficiency of 96%. The Ethanol addition improved the sulphate reducing process. The sulfide generated was partially oxidized to elemental sulphur in the aerobic reactor with removal efficiency of 80%.

Keywords: Wastewater; sulphate removal; anaerobic reactors; biological process; sulphide oxidation; Title.

1 INTRODUÇÃO

O enxofre elementar existe na natureza em depósitos sedimentares e como produto de sublimação vulcânica, cuja principal reserva é localizada na Sicília (Itália). Compostos de enxofre na forma de sulfatos e sulfetos metálicos estão distribuídos em várias regiões do planeta. O enxofre é um elemento essencial para os seres vivos, e muito utilizado na agricultura e indústrias químicas. O íon sulfato (SO_4^{2-}) é a forma mais estável dos compostos de enxofre existentes na natureza e está presente no esgoto sanitário e em diversas águas residuárias industriais, em concentrações variáveis.

As descargas indiscriminadas diretas ou indiretas de águas residuárias contendo sulfato, em corpos receptores, podem prejudicar a qualidade das águas e também interferir no ciclo natural do enxofre.

Em sistemas de coleta e transporte de esgotos, íon sulfato pode ser reduzido a sulfeto (S^{2-}), sob condição de anaerobiose, pelas bactérias redutoras de sulfato (BRS). O sulfeto de hidrogênio tem odor muito desagradável, é um gás tóxico para peixes e humanos e causa corrosão em concreto e tubulações metálicas.

No corpo de água receptor, as descargas de sulfato causam aumento na salinidade, diminuindo a solubilidade do oxigênio na água. Nas zonas anaeróbias, sulfato é reduzido a sulfeto de hidrogênio, aumentando a demanda química de oxigênio (DQO). Dessa forma, o lançamento indiscriminado de sulfato num corpo de água compromete o fenômeno natural de autodepuração.

Em sistemas de tratamento biológico aeróbio de águas residuárias, sulfato eventualmente presente reduz a solubilidade do oxigênio; em sistemas anaeróbios favorece o crescimento das BRS, que competem com microrganismos acidogênicos e metanogênicos por substratos orgânicos e hidrogênio disponíveis.

Portanto, a presença de sulfato em águas residuárias deve ser considerada nos projetos de sistemas de tratamentos biológicos, aeróbios ou anaeróbios. Dessa forma,

o controle das emissões de sulfato resultará em maior proteção da qualidade da água nos corpos receptores desses efluentes.

Considerando os problemas que sulfato pode causar se lançado indiscriminadamente no ambiente, os órgãos de controle ambiental têm exigido que as fontes emissoras reduzam as concentrações desse ânion nas águas residuárias. No Estado de São Paulo, a Lei nº 997 de 31 de maio de 1976, regulamentada pelo Decreto Estadual 8468 de 1976, no Artigo 19-A, estabelece a concentração máxima de $1.000 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ em efluentes líquidos lançados direta ou indiretamente nos corpos receptores.

A redução do sulfato a sulfeto pelas BRS, em ambiente anaeróbio, e a oxidação parcial do sulfeto a enxofre elementar, em presença de baixas concentrações de oxigênio ($< 0,1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), podem ocorrer em sistemas biológicos de tratamento de águas residuárias adequadamente projetados. Para isso, são importantes os conhecimentos das interações dos microrganismos envolvidos e da cinética de conversão dos substratos orgânicos e inorgânicos a produtos finais estáveis. O enxofre elementar (S^0) pode ser recuperado e reutilizado por indústrias químicas para produzir ácido sulfúrico, ou sulfato de amônio, muito utilizado na agricultura.

Vários tipos de reatores biológicos anaeróbios foram desenvolvidos e podem ser utilizados com a finalidade de remoção de sulfato, como por exemplo: reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (MIZUNO *et al.*, 1994), reator de leito granular expandido (SMUL *et al.*, 1997), reator anaeróbio de leito fixo (SILVA, 1999).

O reator anaeróbio operado em bateladas seqüenciais (ASBR) é uma configuração recente (DAGUE *et al.*, 1992), baseada na propriedade de floculação da biomassa, sob baixa relação entre substrato (F) e microrganismos (M), ou seja, baixa relação F/M, favorecendo o desenvolvimento dos processos de conversão de matéria orgânica e separação das fases sólida e líquida num único sistema. A operação desses reatores ocorre em quatro etapas: enchimento, reação, sedimentação e descarga. A etapa de sedimentação pode ser suprimida, empregando-se reatores com biomassa imobilizada em materiais suporte, conforme proposto por RATUZNEI *et al.* (2000).

Reatores operados em bateladas podem ser utilizados para estudos de cinética das reações bioquímicas por suas simplicidades, pois, excluem fluxos de entrada e de saída durante a fase reacional. São facilmente adaptáveis à escala de laboratório, necessitando poucos equipamentos auxiliares ou pouca instrumentação (LEVENSPIEL, 1999). Os balanços de massa nesses reatores resultam nas próprias velocidades de reação.

2 OBJETIVOS

Os principais objetivos deste trabalho foram:

- a. Avaliar o processo de redução de sulfato de água residuária sintética com relações $DQO/[SO_4^{2-}]$ iguais a 3,2; 1,3; e 0,4 em reatores anaeróbios contendo biomassa imobilizada em suportes inertes, operados em bateladas seqüenciais (ASBBR);
- b. Identificar as principais rotas de consumo de substratos orgânicos por bactérias acidogênicas (BA), BRS e arqueas metanogênicas (AM) por meio de modelação cinética;
- c. Avaliar o processo de oxidação parcial do sulfeto em reator aeróbio com biomassa imobilizada em espuma de poliuretano (PU), operado em bateladas seqüenciais (SBBR).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Origem do Enxofre e sua Utilização nas Atividades Antropogênicas.

A ocorrência de enxofre na natureza dá-se nas formas elementar (depósitos sedimentares e produto de sublimação vulcânica) e combinada como sulfatos e sulfetos metálicos (Figura 3.1). As reservas mundiais de enxofre representam o enxofre associado a: gás natural, petróleo, sulfetos metálicos (cobre, chumbo, zinco, molibdênio e ferro), na forma elementar nos depósitos em rochas sedimentares deformadas, e vizinho a domos salinos nos depósitos vulcânicos, resultantes da sublimação de vapores sulfurosos de origem magmática e arenitos betuminosos. Segundo dados apurados pelo Departamento Nacional de Pesquisa Mineral (DNPM), a maior reserva mundial pertence ao Iraque (12,4%) e a reserva brasileira representa 1,2% do enxofre existente (DNPM, 2004).

O íon sulfato é distribuído na natureza como sais dissolvidos em águas naturais, em quantidades estimadas em $1,3 \times 10^9$ megaton, e como sais insolúveis - $5,0 \times 10^9$ megaton (LENS *et al.*, 1998).

Em 2003, a produção mundial de enxofre foi de $5,9515 \times 10^7$ t, tendo o Brasil participado com 395.000 t, o que representa 0,7 % da produção mundial (DNPM, 2004). O Brasil importou 1.893.559 t, entre bens primários e compostos industrializados (ácido sulfúrico, enxofre sublimado, pirita, etc), e exportou 429 t de enxofre como bens primários (por exemplo, pirita) e compostos industrializados (por exemplo, ácido sulfúrico). No Brasil, o consumo de enxofre decorre de sua aplicação na agricultura (53% da produção), seguida pelo consumo das indústrias químicas (47%) (diretamente relacionado à produção de ácido sulfúrico (H_2SO_4), cujo maior destino, 70 a 80 %, é a produção de ácido fosfórico (H_3PO_4) e fertilizantes). Outros importantes setores consumidores são as produções de: pigmentos inorgânicos, papel celulose, borracha, bisulfeto de carbono, explosivos, açúcar e cosméticos (DNPM, 2004).

Figura 3.1. Formas de Enxofre Encontradas na Natureza: **a.** Enxofre nativo; **b.** Sulfeto de ferro (pirita); **c.** Sulfito de ferro (pirrotita). (Fonte: CDCC/USP)

3.2 Fontes de Emissão de Sulfato e Contaminação das Águas

Sulfato (SO_4^{2-}) é o composto de enxofre mais estável, seja nas reservas naturais ou como resíduo das atividades que utilizam enxofre. As águas naturais são contaminadas por sulfato através dos fenômenos meteorológicos e por lançamento de águas residuárias oriundas das atividades antropogênicas (Figura 3.2).

Figura 3.2. Balanço das Emissões Naturais e Antropogênicas de Enxofre (Adaptado de MADGAN *et al*, 1997).

LENS *et al.* (1998) estimam que 97 megaton de enxofre, na forma de sulfeto metálico, são removidas anualmente do ciclo natural devido à sedimentação, na

crosta terrestre.

3.3 Fontes Naturais de Emissão de Sulfato

A percolação de águas pluviais nas camadas do solo dissolve sulfatos presentes nos reservatórios sólidos, transportando-os para as águas subterrâneas e para as camadas profundas do solo, onde oxigênio pode ser escasso. Em condição anaeróbia, o íon SO_4^{2-} é reduzido a sulfeto pelas BRS. Ao se combinar com íons metálicos, o íon sulfeto pode ser precipitado, constituindo as reservas de sulfetos no estado sólido. Esse fenômeno ocorre também nos oceanos.

A reoxidação do sulfeto dos estoques de precipitados ou minerais, durante a percolação de águas pluviais contendo oxigênio dissolvido, pode gerar águas ricas em sulfato, como as águas ácidas de drenagem de minas, que podem conter concentrações de SO_4^{2-} moderadas (0,35 a 0,55 g.L⁻¹) ou altas (1,5 a 7,2 g.L⁻¹) (LENS *et al.*, 1998).

Corpos de água podem conter compostos de enxofre naturalmente pela dissolução de compostos presentes na atmosfera, contaminada por aerossóis marítimos e erupções vulcânicas.

Ácido sulfúrico pode ser formado na atmosfera, em consequência da presença de dióxido e trióxido de enxofre. Conseqüentemente, as águas superficiais e o solo tornam-se acidificados devido às precipitações atmosféricas (chuvas ácidas) que contribuem para a diminuição da diversidade de espécies e da vitalidade de muitos ecossistemas, particularmente lagos oligotróficos fracamente tamponados.

3.4 Emissões Antropogênicas

Esgotos tipicamente domésticos contêm sulfato em concentrações que variam entre 20 mg.L⁻¹ e 50 mg.L⁻¹ (METCALF & EDDY, 1991). Diversas águas residuárias industriais contêm concentrações de sulfato mais elevadas do que o esgoto sanitário. Além do sulfato, outros compostos de enxofre podem estar presentes. A contaminação de águas residuárias industriais com compostos de enxofre pode ocorrer devido ao uso de matérias-primas sulfurosas aplicadas aos processos, como, por exemplo, nas indústrias alimentícia e de papel e celulose, ou devido ao uso de águas contendo sulfato, por exemplo, água do mar (LENS *et al.*,

1998).

Em processos industriais fermentativos, as águas residuárias podem ser contaminadas por sulfato quando ácido sulfúrico for usado para controle do pH. O uso do H_2SO_4 é estimulado por ser relativamente barato e pela possibilidade de transporte na forma concentrada (LENS *et al.*, 1998).

Efluentes líquidos das indústrias de refino de óleos vegetais, de material fotográfico e de explosivos também contêm altas concentrações de sulfato (LENS *et al.*, 1998).

3.5 Fundamentos do Processo Biológico de Redução de Sulfato

Diversos organismos, incluindo plantas superiores, algas, fungos e muitos procariontes utilizam SO_4^{2-} como fonte de enxofre para a síntese celular, realizando a *redução assimilativa* do íon sulfato. Nesse processo, o sulfeto gerado é imediatamente convertido a enxofre orgânico na forma de aminoácidos. A *redução desassimilativa* do íon sulfato (Figura 3.3) é o processo através do qual sulfeto é excretado para o ambiente, ou seja, não é totalmente utilizado na síntese celular. Esse processo é realizado pelas BRS, um grupo de microrganismos amplamente distribuídos na natureza, que têm a capacidade de utilizar sulfato como aceptor de elétrons na respiração anaeróbia (MADIGAN *et al.*, 1997).

Figura 3.3. Redução Desassimilativa do Íon Sulfato (MADIGAN *et al.*, 1997)

Na Figura 3.3, PP_i representa a molécula de pirofosfato que foi substituída por uma molécula de sulfato na molécula de ATP e AMP é adenosina monofosfato, resultante da redução da APS.

O processo de redução de sulfato a sulfeto ocorre através de uma sequência de estágios intermediários resultando na transferência de oito moles de elétrons do doador (por exemplo, H₂, ácidos graxos, etanol) por mol de sulfato. Um mol de oxigênio pode receber quatro moles de elétrons, o que significa que a capacidade de receber elétrons por 1 mol de SO₄²⁻ equivale a capacidade de 2 moles de O₂, ou 0,67 gO₂ por gSO₄²⁻. Isto significa, teoricamente, que uma determinada água residuária com relação DQO/[SO₄²⁻] de 0,67 pode ter a quantidade de matéria orgânica completamente oxidada via redução de sulfato. Quando a remoção de sulfato for o objetivo do tratamento de águas residuárias que apresentem relação DQO/[SO₄²⁻] menor que 0,67, carbono e elétrons devem ser introduzidos por fontes externas, como, por exemplo, etanol. Quando a relação DQO/[SO₄²⁻] for superior a 0,67, a remoção de matéria orgânica só poderá ser completa se, além da redução de sulfato, ocorrer a metanogênese (LENS *et al.* 1998).

O íon sulfato é bastante estável e não pode ser utilizado sem ser ativado por meio de adenosina trifosfato (ATP). A enzima *ATP-sulfurilase* cataliza a ligação do íon sulfato a um fosfato da molécula de ATP, formando a adenosina fosfossulfato (APS). Na *redução desassimilativa* (Figura 3.3), a molécula de APS é reduzida diretamente a sulfito (SO₃²⁻), mas, na *redução assimilativa*, outro átomo de fósforo (P) é adicionado à molécula de APS, formando fosfoadenosina fosfossulfato (PAPS) e, a partir daí, o sulfato é reduzido. Em ambos os processos de redução de sulfato, *desassimilativo* e *assimilativo*, o íon sulfito é intermediário.

Na ausência de um aceptor de elétrons, as BRS são capazes de crescer mediante uma reação acetogênica ou fermentativa, usando piruvato, lactato ou etanol como substratos orgânicos. Em culturas mistas, como as existentes em biorreatores para tratamento de esgotos, em presença de sulfato, as BRS competem com bactérias acidogênicas (BA) e arqueas metanogênicas (AM) hidrogenotróficas e acetoclásticas por substratos disponíveis. A importância dessa competição determina o grau de produção de metano e de sulfeto, bem como os produtos finais do processo anaeróbio de conversão da matéria orgânica (LENS *et al.* 1998).

De acordo com o HOLT AND JOHN (1994), as BRS são classificadas em quatro subgrupos. O subgrupo 1 consiste de espécies pertencentes ao gênero *Desulfotomaculum*, que compreende todas as BRS formadoras de esporos. Microrganismos desse gênero se apresentam na forma de bacilos retos ou ligeiramente curvados, com dimensões entre 0,5 µm a 2,0µm de diâmetro por 2,0 µm a 9,0 µm de comprimento, freqüentemente com extremidades afiladas. Morfologias com forma de gota podem eventualmente ocorrer. Esses microrganismos formam endosporos resistentes ao calor e à dessecação, são estritamente anaeróbios, podem utilizar sulfato, tiosulfato ou sulfito como aceptores de elétrons. Muitas espécies desse gênero utilizam H₂, lactato, ácidos carboxílicos C₁-C₁₈ e algumas utilizam açúcares ou aminoácidos. Substratos orgânicos podem ser incompletamente oxidados a acetato ou completamente oxidados a CO₂. Espécies que utilizam H₂ podem ser heterotróficas, requerendo acetato como fonte de carbono, ou autotróficas. Muitas espécies pertencentes ao gênero *Desulfotomaculum* são mais sensíveis ao H₂S produzido a partir do sulfato. O pH ideal para crescimento situa-se entre 6,6 e 7,4 e a temperatura entre 25°C e 40°C, para espécies mesofílicas, e 40°C e 65°C para espécies termofílicas.

O subgrupo 2 compreende as BRS não formadoras de esporos, que oxidam substratos orgânicos parcialmente a acetato. Esses organismos utilizam enxofre (S⁰), sulfito, tiosulfato, ou sulfato como aceitor de elétrons. Os gêneros pertencentes ao subgrupo 2 são os seguintes:

- ***Desulfobulbus***: Apresentam-se como células ovais, bacilos retos, ou em forma semelhante à de limão, com dimensões de 0,6 µm a 1,3 µm de diâmetro por 1,5 µm a 2,5 µm de comprimento, crescendo isoladamente ou em pares. Existem espécies que são movidas por um único flagelo polar e espécies imóveis. Utilizam o propionato como principal doador de elétrons, entretanto, H₂, lactato, ou etanol podem ser utilizados. Os substratos orgânicos são oxidados parcialmente a acetato. Na ausência de aceitor externo de elétrons, lactato ou etanol e CO₂ podem ser fermentados a propionato e acetato. As faixas ótimas de pH e de temperatura situam-se entre 6,5 a 7,5 e 25 e 40°C, respectivamente. Habitam ambientes de água doce e sedimentos marinhos.

- ***Desulfomicrobium***: Espécies desse gênero têm formas ovais e de bacilos com dimensões de 0,6 µm x 1,3 µm. Podem possuir um único flagelo polar para mobilidade ou serem imóveis. Doadores de elétrons podem ser H₂, lactato, ou malato. Os substratos orgânicos são oxidados parcialmente a acetato. As faixas ótimas de pH e de temperatura estão entre 6,6-7,5 e 25 e 40°C, respectivamente. Habitam ambientes de água doce, sedimentos marinhos, e águas oleosas, como, por exemplo, as que derivam da extração de petróleo.
- ***Desulfomonas***: São encontradas na forma de bacilos irregulares, com dimensões entre 0,8 µm a 1,3 µm por 1,2 µm a 5,0 µm de comprimento. São imóveis e estritamente anaeróbios. Utilizam somente sulfato como aceptor, e hidrogênio, lactato, ou etanol como doadores de elétrons. Oxidam os substratos orgânicos parcialmente a acetato. As faixas ótimas de pH e de temperatura estão entre 6,6 e 7,5 e 30°C e 40°C, respectivamente. *Desulfomonas* foram isoladas a partir de fezes humanas.
- ***Desulfovibrio***: São células com forma de espiral e vibrióide com dimensões 0,5µm a 1,3µm de diâmetro por 0,8µm a 5,0 µm de comprimento, movidas por um único flagelo ou tufo de flagelos polar com exceção de *Desulfovibrio carbinolicus*, que é imóvel. As espécies desse gênero são estritamente anaeróbias e reduzem sulfato, tiosulfato, sulfito, e enxofre elementar a H₂S. Hidrogênio, lactato, etanol, malato ou fumarato servem como doadores de elétrons; algumas espécies podem utilizar açúcar, glicerol, colina, ou aminoácidos. Oxidam parcialmente os substratos orgânicos a acetato. As faixas ótimas de pH ficam entre 6,6 e 7,5 e de temperatura, entre 25°C e 40°C. Habitam ambientes de água doce, sedimentos marinhos, águas oleosas, efluentes industriais e intestinos de animais.
- ***Thermodesulfobacterium***: São células ovaladas e em forma de bacilos com dimensões 0,3 µm de diâmetro por 0,9 µm a 2,5 µm de comprimento. Algumas espécies são movidas por um flagelo polar, outras são imóveis. São estritamente anaeróbias e utilizam sulfato como aceptor, e H₂ ou lactato como doadores de elétrons. Substratos orgânicos são parcialmente oxidados a acetato. São faixas ótimas de pH: 6,6-7,5 e de temperatura entre 65°C-70°C.

Espécies de *Termodesulfobacterium* foram isoladas de fontes de águas quentes e águas oleosas.

O subgrupo 3 compreende as BRS não formadoras de esporos que oxidam substratos orgânicos completamente a CO_2 . Também fazem parte desse subgrupo as arqueas redutoras de sulfato, termofílicas, que oxidam completamente substratos orgânicos.

- ***Desulfobacter***: São células ovais, com forma de bacilos, ou ligeiramente curvadas, com dimensões 0,5 μm a 2,5 μm por 1,7 μm a 7,0 μm de comprimento, movidas por um flagelo polar. Existem algumas espécies imóveis. Reduzem sulfato, tiosulfato e sulfito a H_2S . O acetato é o doador de elétrons preferido. Além de acetato, algumas espécies utilizam etanol, hidrogênio e lactato. *Desulfobacter hydrogenophilus* cresce autotroficamente utilizando CO_2 como única fonte de carbono. Adições de NaCl (7 g.L^{-1}) e $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (> 1 g.L^{-1}), geralmente, têm efeito estimulante, sendo, às vezes, necessárias para o crescimento desses microrganismos. São faixas ótimas de pH: de 6,5-7,4 e de temperatura, entre 20°C e 33°C. A presença de espécies do gênero *Desulfobacter* ocorre em sedimentos marinhos ou salobros. Esses organismos podem ocorrer em águas doces e oleosas.
- ***Desulfobacterium***: São células ovais, bacilos retos ou ligeiramente curvados e vibrióides, com dimensões de 0,7 μm -3,0 μm x 1,5 μm -2,8 μm . Existem espécies que são movidas por meio de um flagelo polar e outras imóveis. Reduzem sulfato, tiosulfato, e sulfito a H_2S . Nutricionalmente, as espécies de *Desulfobacterium* são muito versáteis. Muitas espécies utilizam H_2 , formiato e ácidos carboxílicos até C_{16} , lactato, ou etanol, como doadores de elétrons. Várias espécies podem utilizar compostos aromáticos, tais como, ácidos orgânicos com grupo fenil, compostos fenólicos, ou compostos N-heterocíclicos. Apresentam baixo crescimento em acetato ou propionato. Espécies que utilizam H_2 são autotróficas. São faixas ótimas de pH: 6,6-7,6 e de temperatura geralmente está entre 20 e 30°C, e raramente, entre 30°C e 35°C. Espécies desse gênero são comuns em sedimentos de água doce, marinhos e salobros.
- ***Desulfococcus***: São células esféricas ou ovaladas, com dimensões entre 1,4 μm a 2,3 μm em diâmetro. Algumas espécies se movem por meio de um

flagelo polar e outras são imóveis. São estritamente anaeróbias e nutricionalmente versáteis. Muitas espécies utilizam formiato e ácidos carboxílicos até C_{16} , lactato ou etanol como doadores de elétrons. Acetona, ácidos orgânicos com grupo fenil, ou nicotinato podem ser utilizados. São faixas ótimas de pH: 6,7-7,6 e de temperatura entre 28°C e 35°C. Espécies desse gênero são encontradas em águas doces, sedimentos salobros e marinhos.

- ***Desulfomonile***: São células em forma de bacilos com dimensões 0,8 μm -1,0 μm x 5,0 μm -10,0 μm , com extremidades arredondadas, imóveis e estritamente anaeróbias. Reduzem sulfato, tiosulfato e sulfito a H_2S . Crescem melhor utilizando piruvato, porém, H_2 , formiato, ou benzoato também são utilizados. Essas espécies têm crescimento mais pobre quando utiliza lactato, acetato, ou butirato. A faixa ótima de pH é 6,8-7,0 e a temperatura ótima é 37°C. *Desulfomonile* foi isolado a partir de lodo de esgoto. Esses microrganismos são capazes de realizar a desalogenação redutiva do 3-clorobenzoato, convertendo-o em benzeno.
- ***Desulfonema***: São células arranjadas em filamentos com dimensões 2,5 μm -8,0 μm em diâmetro, podem ter comprimento de até 2 mm. Esses organismos se movem por deslizamento. Espécies desse gênero são estritamente anaeróbias e podem reduzir sulfato, tiosulfato e sulfito, a H_2S . Enxofre exerce efeito inibitório sobre esses microrganismos. Os doadores de elétrons são : acetato, ácidos carboxílicos até C_{16} , fumarato, e succinato. Opcionalmente, utilizam H_2 , lactato, ou benzoato. São faixas ótimas de pH: 7,0-7,6 e de temperatura, entre 28°C e 32°C. Espécies desse gênero ocorrem em ambientes ricos em compostos orgânicos e em sedimentos marinhos.
- ***Desulfosarcina***: São células em forma de bacilos, ovais, ou quase cocóides, com dimensões 1 μm a 1,5 μm de diâmetro por 1,5 μm a 2,5 μm de comprimento. Crescem em arranjos em forma de sarcina e aderidas a superfícies. Células isoladas podem se mover por um flagelo polar. Esses organismos são estritamente anaeróbios, reduzem sulfato, tiosulfato, ou sulfito a H_2S . Hidrogênio, formiato e ácidos carboxílicos até C_{16} , lactato, etanol, fumarato, e benzoato servem como doadores de elétrons. O

crescimento utilizando acetato é reduzido. São capazes de crescer autotroficamente. A faixa ótima de pH é 7,2-7,6 e a temperatura ótima é 33°C. Espécies desse gênero são comuns em sedimentos marinhos.

O subgrupo 4 é constituído por bactérias que reduzem enxofre a H₂S.

- ***Desulfurella*:** São bacilos retos e ovais, algumas vezes curvados, com dimensões 0,4 µm a 0,8 µm de diâmetro por 1,0 µm a 4,0 µm de comprimento que se movem por meio de um flagelo lateral. São estritamente anaeróbios e reduzem enxofre a H₂S. Não reduzem oxianions do enxofre. Acetato serve como doador de elétrons e é oxidado completamente a CO₂. A faixa ótima de pH fica entre 6,8-7,0. São moderadamente termofílicos, com crescimento ótimo a temperaturas entre 52°C e 57°C. Habitam fontes geotérmicas ricas em compostos orgânicos
- ***Desulfuromonas*:** São células em formas de bacilos e ovais, algumas vezes curvadas, com dimensões 0,4 µm a 0,8 µm de diâmetro por 1,0 µm a 4,0 µm de comprimento que se movem pela ação de um flagelo lateral. São estritamente anaeróbios e reduzem somente enxofre a H₂S. Utilizam acetato, propionato e etanol, como doadores de elétrons, oxidando-os completamente a CO₂. A faixa ótima de pH está entre 6,8-7,5 e a temperatura ótima é cerca de 30°C. Habitam sedimentos marinhos.

A atividade das BRS pode estimular a degradação de propionato, pelo fato das reações serem independentes da pressão parcial de hidrogênio (HARADA *et al.*, 1994), ao passo que a adição de propionato pode também melhorar a redução de sulfato (LENS *et al.* 1998). HARADA *et al.* (1994) concluíram que as BRS desempenham papel importante na oxidação do propionato para acetato, após observarem acúmulo de propionato em meio contendo lodo anaeróbio retirado após 180 dias de um reator alimentado com esgoto sintético. Os autores observaram que, a altas concentrações de sulfato, não ocorreu acúmulo de propionato. MIZUNO *et al.* (1994), estudando o efeito da relação DQO/[SO₄²⁻] na degradação do butirato, verificaram que, em presença de sulfato, as BRS podem competir com vantagem pelo butirato com as bactérias sintróficas acetogênicas produtoras de hidrogênio (BAPH).

3.6 Processos Biológicos de Remoção de Oxiânions de Enxofre com Oxidação Parcial de Sulfeto

Nas últimas décadas, várias alternativas biotecnológicas têm sido desenvolvidas para a remoção de oxiânions de enxofre (SO_3^{2-} , HSO_3^- , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, SO_4^{2-} , entre outros) principalmente de efluentes líquidos industriais. Inicialmente, os óxidos de enxofre são transformados em sulfeto em ambiente anaeróbio. Sulfeto é subsequente re-oxidado para enxofre elementar (S^0), que pode ser recuperado. Nesse processo biotecnológico, pode ser utilizado *Thiobacillii sp.* (SMUL *et al.*, 1997). A oxidação biológica parcial de sulfeto é considerada uma alternativa de baixo custo para a recuperação de enxofre elementar, quando comparado aos processos físicos e químicos existentes (LENS *et al.*, 1998). Esse processo pode ocorrer em ambientes aeróbios, anóxicos e anaeróbios. Sob essas condições, respectivamente, oxigênio, nitrato ou CO_2 são utilizados como aceptores de elétrons. Desse processo participam bactérias fototróficas anoxigênicas e bactérias quimiolitotróficas.

De acordo com HOLT AND JOHN (1994), bactérias fototróficas anoxigênicas (BFA) dividem-se em sete subgrupos. Esses organismos encontram-se como células esféricas, espiraladas, bacilos retos ou em forma de víbrios, com dimensões 0,3 μm -6,0 μm . Ocorrem isoladamente e em agregados regular ou irregular e podem formar filamentos. Existem espécies que se movimentam por flagelo ou deslizamento, e espécies imóveis. As cores das suspensões de células variam a partir de violeta-púrpura a vermelho-púrpuro, vermelho rosado, marrom amarelado, marrom, e verde. Todas as espécies contêm pigmentos de bacterioclorofila e carotenóides e são fotoautotróficas ou fotoheterotróficas sob condições anaeróbias ou microaeróbias. Compostos reduzidos de enxofre são utilizados como doadores externos de elétrons, assim como, H_2 ou compostos orgânicos. Durante a oxidação do sulfeto, glóbulos de enxofre são armazenados pelas células, internamente (subgrupo 1) e externamente (subgrupos 2 e 5), além de polissacarídeos, poli- β -hidroxibutirato, e polifosfato. Esses microrganismos assimilam CO_2 e utilizam, geralmente, sais de amônia como fontes de nitrogênio. Com exceção das espécies pertencentes ao subgrupo 6, as demais são capazes de

assimilar N_2 . Muitas espécies, exceto as pertencentes ao subgrupo 5, crescem quimioautotroficamente ou quimiorganotroficamente sob condições anaeróbia e microaeróbia. Ácidos graxos, outros ácidos orgânicos, ou álcoois servem como doadores de elétrons e fontes de carbono. BFA habitam solos úmidos e ambientes aquáticos incluindo águas doces, salobras e marinhas, além de ambientes hipersalinos.

O **subgrupo 1** é constituído por BFA que armazenam glóbulos de enxofre dentro das células e o oxidam posteriormente a sulfato. Ao **subgrupo 2** das BFA pertencem os microrganismos que podem, além do sulfeto, utilizar enxofre elementar como doador de elétrons na assimilação de CO_2 . Glóbulos de enxofre são depositados fora das células e podem, posteriormente, ser oxidados a sulfato. O crescimento depende da salinidade e da alcalinidade. O **subgrupo 3** das BFA compreende microrganismos que foto-assimilam substâncias orgânicas simples, sendo que algumas espécies são capazes de utilizar tiosulfato como doadores de elétrons para assimilar CO_2 . Depositam glóbulos de enxofre fora da célula que são, raramente, oxidados a sulfato. Muitos gêneros são quimioheterotróficos sob condição microaeróbia ou aeróbia. O **subgrupo 4** de BFA é constituído por microrganismos que foto-assimilam compostos orgânicos simples, são estritamente anaeróbios e foto-heterotróficos. Esses microrganismos não utilizam sulfeto. O **subgrupo 5** compreende as BFA que utilizam sulfeto ou enxofre como doador de elétrons para a assimilação de CO_2 . Depositam glóbulos de enxofre fora da célula. Todas as espécies são anaeróbias e fototróficas obrigatórias. Assimilam compostos orgânicos, na presença de sulfeto e bicarbonato. As suspensões de células são verdes ou marrons. As BFA pertencentes ao **subgrupo 6** formam filamentos multicelulares arranjados em seqüência única, e se movem por deslizamento. Todos os gêneros são facultativamente aeróbios e, preferencialmente, utilizam substâncias orgânicas em seu metabolismo fototrófico ou quimiotrófico. Finalmente, o **subgrupo 7** é constituído por células que crescem quimiolitotróficamente sob condições aeróbias. Os organismos desse subgrupo não crescem em condição anaeróbia, em presença de luz, e o metabolismo é predominantemente respiratório.

FUTIWAKI *et al.* (2004) observaram remoção de 99% de sulfeto, utilizando a sulfobactéria púrpura *Cromatium vinosum* DSM 183, aplicando concentrações de

sulfeto entre $9,3 \text{ mg.L}^{-1}$ e 334 mg.L^{-1} . Esses autores observaram que, após a utilização do sulfeto, *Cromatium vinosum* DSM 183 passou a utilizar enxofre elementar, armazenado intracelularmente, como doador de elétrons e que a maior parte do consumo de sulfeto foi direcionada para o crescimento celular. Por exemplo, com concentrações iniciais de sulfeto de 188 mg.L^{-1} a 334 mg.L^{-1} , menos de 30% do sulfeto foi convertido a enxofre elementar, mas a eficiência em remoção desse ânion foi superior a 99%.

3.7 Reatores Utilizados para o Tratamento Biológico Anaeróbio de Águas Residuárias Contendo Sulfato.

Segundo CAMPOS (1990), a partir de 1970 a aplicação de processos anaeróbios no tratamento de águas residuárias foi valorizada. Houve aumento significativo das alternativas de concepções físicas das unidades de conversão biológica.

Os principais reatores utilizados em sistemas anaeróbios são compostos por meios físicos de adesão ou utilizam microrganismos auto-imobilizados na forma de grânulos. Os reatores anaeróbios com biomassa imobilizada têm ampla aplicação no tratamento de águas residuárias. A principal vantagem desses reatores é a possibilidade de se trabalhar com alto tempo de retenção celular em relação ao tempo de detenção hidráulica. Nesses reatores, microrganismos são retidos nos interstícios existentes em leito constituído por materiais inertes como, por exemplo, pedras, PVC, carvão ativado, espuma de poliuretano, polietileno, cerâmicas. Além de ocupar os interstícios, microrganismos crescem sobre a superfície desses materiais, formando biofilmes. Assim, forma-se uma região com alta concentração de microrganismos ativos no reator, obrigatoriamente atravessada pela água residuária em tratamento, em fluxo ascendente ou descendente.

Além do crescimento aderido em materiais suporte, pode ocorrer a auto-imobilização na forma de grânulos. Essa propriedade é explorada nos reatores anaeróbios de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB - upflow anaerobic sludge blanket), amplamente empregados no tratamento de águas residuárias industriais, como por exemplo, abatedouro de aves, cervejarias e laticínios, e também no tratamento de esgoto sanitário.

Os reatores que utilizam materiais inertes para imobilização de microrganismos podem ser classificados em reatores de leito fixo e reatores de leito móvel, como por exemplo, os reatores de leito expandido e de leito fluidificado (CAMPOS, 1990).

Segundo (ZAIAT *et al.*, 2001), a utilização de reatores contendo células imobilizadas em suporte inerte apresenta a vantagem de se eliminar as incertezas referentes à granulação do lodo. No entanto, devem ser empregados suportes adequados, que permitam boa adesão dos microrganismos envolvidos e que tenham custo acessível. Esta escolha deve ser criteriosa, baseada em ensaios de aderência celular e contemplando o aspecto econômico.

A maioria das configurações de reatores anaeróbios de altas taxas, utilizada para tratamento de águas residuária, pode ser empregada em processos que visam a remoção de compostos de enxofre. ISA *et al.* (1986a e 1986b) observaram a ocorrência simultânea dos processos sulfetogênico e metanogênico em reatores anaeróbios com biomassa imobilizada em espuma de poliuretano. SMUL *et al.* (1997) observaram altas taxas de redução microbiana de sulfato em reator com leito granular expandido (EGSB - expanded granular sludge bed). LENS *et al.* (2000) utilizaram um reator anaeróbio compartimentado com atividades sulfetogênica e metanogênica para avaliar o efeito da adição de nitrato, visando a otimização dos dois processos. SILVA *et al.* (2002) observaram a viabilidade de redução de sulfato em água residuária industrial utilizando reator anaeróbio de leito fixo com fluxo horizontal. Esses autores constataram que etanol pode estimular o processo sulfetogênico no tratamento de águas residuárias que requerem a adição de fonte de carbono e doador de elétrons externos.

PEREZ-RODRIGUEZ *et al.* (1989) estudaram o efeito de algumas argilas minerais utilizadas como suporte de imobilização para o crescimento de BRS em reatores anaeróbios. Esses autores testaram sepiolita natural, sepiolita tratada (para garantir melhor dispersão do material), montimorilonita e vermiculita e compararam esses materiais com poliuretano expandido e PVC. Os autores concluíram que a espuma de poliuretano foi o suporte no qual as BRS cresceram em maior quantidade, seguida pelo PVC e montimorilonita. Segundo os autores, a dificuldade de crescimento de BRS sobre a sepiolita tratada foi, possivelmente, devido a adsorção

de alguns componentes necessários para o crescimento dessas bactérias nos canais do mineral, tornando-os inacessíveis.

Outra configuração, o reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais (ASBR) foi desenvolvido com base nos princípios de que a biomassa anaeróbia floculava de maneira análoga ao processo aeróbio de lodos ativados (DAGUE *et al.*, 1992). Esses autores observaram que a eficiência da floculação era afetada pela carga orgânica, particularmente pela relação alimento (F)/microrganismos (M). Os melhores resultados quanto a retenção de biomassa e estabilidade em remoção de DQO foram obtidos com relação F/M igual a 0,5. A operação do ASBR (Figura 3.4) é muito simples e ocorre em quatro estágios: enchimento, reação, sedimentação e descarga, que constituem um ciclo.

Figura 3.4. Esquema de Operação do ASBR com Recirculação do Biogás. (1) Reator, (2) Aspiração do Biogás, (3) Frasco p/ observação (4) Absorção de H_2S , (5) Medidor de Biogás. B1, B2 e B3, correspondem aos bombeamentos de gás, efluente e afluente, respectivamente (Adaptado de Zaiat *et al.*, 2001).

Essa configuração de reator tem sido estudada para aplicação no tratamento de diversas águas residuárias, tais como: resíduos de suinocultura (SCHMIT & DAGUE, 1993); chorume (TIMUR & ÖSTURK, 1999); laticínios (DUGBA & ZHANG, 1999).

O bom desempenho do ASBR está relacionado ao fenômeno de granulação. O período de partida requerido para a formação do grânulo pode ser longo, de pelo menos cinco meses. Esse período pode ser reduzido para três a quatro meses adicionando-se substâncias para melhorar a granulação, como carvão ativado em pó e granular, areia de sílica, polímeros e cloreto férrico (WIRTZ & DAGUE, 1997).

A operação do ASBR em regime intermitente possibilita controlar a duração do ciclo de modo a se obter a qualidade desejada para o efluente tratado, ou seja, o lançamento no corpo receptor em conformidade com os padrões de emissão estabelecidos. Entretanto, há fatores que afetam o desempenho desse tipo de reator, sendo os principais: agitação, relação inicial entre substrato e biomassa, configuração geométrica e estratégia de alimentação. A imobilização dos microrganismos em suportes inertes é uma alternativa promissora pelo fato de melhorar a retenção de biomassa e suprimir a etapa de sedimentação (ZAIAT *et al.*, 2001). Nesse sentido, RATUSZNEI *et al.* (2000) propuseram e testaram o reator anaeróbico operado em batelada seqüencial contendo biomassa imobilizada em suporte inerte e obtiveram bons resultados no tratamento de água residuária de baixa carga, eficiência média de remoção de DQO igual a 86%, permitindo a supressão da etapa de sedimentação da biomassa e reduzindo, conseqüentemente, o tempo total do ciclo.

3.8 Fundamentos da Adesão Microbiana em Superfícies de Materiais Inertes

As interações entre partículas e superfícies são importantes para muitas aplicações tecnológicas, bem como em sistemas biológicos. Apesar da ampla aplicação em processos industriais, no campo da saúde e alimentos, ainda não existe uma teoria quantitativa para descrever a adesão em todos os aspectos, devido a diversos fatores como: falta de conhecimento sobre as forças de adesão entre dois corpos e ocorrência de ligações químicas e não químicas fora da interface ou na superfície. As forças de adesão podem ser estimadas a partir de um modelo cinético relativamente simples, que considera a adesão entre pequenas partículas esféricas e um substrato sólido liso. Sistemas desse tipo são denominados “ideais” e somente são válidos quando forças atrativas de longo alcance entre o aderente e a superfície, como forças de van der Waals e forças eletrostáticas, são aplicáveis. A força atrativa entre uma esfera e a superfície plana gera deformação da interface comum (uma

parte elástica e outra não elástica), de modo que uma área de contato denominada “área adesiva” é formada, a qual pode aumentar com o passar do tempo, dependendo da rigidez da superfície. O modelo de interação “esfera-superfície plana” é inadequado para o estado de adesão “real” porque partículas e substratos reais não são lisos, sendo a zona de contato constituída de vários pontos onde as forças de pequeno alcance são mais fortes e, portanto, a adesão é suscetível à geometria detalhada dos corpos próximos aos pontos de contato. O sistema exige uma extensa faixa de forças adesivas para que a população seja entendida como uniforme. As células de animais superiores sofrem deformações plásticas nos pontos de contato devido às grandes pressões que agem sobre elas, mas as bactérias são mais rígidas e parecem não deformar quando interagem com superfícies. A natureza complexa da superfície celular possibilita vários tipos de interações simultaneamente, como interações hidrofóbicas e hidrofílicas, pontes de hidrogênio, ligações eletrostáticas, etc. Todavia, teorias quantitativas que descrevem todas essas interações são escassas (PETHICA, 2000).

Segundo PETHICA (2000), a produção de moléculas complexas por microrganismos conduz à formação da camada condicionante, que é importante no processo de fixação microbiana a suportes. É importante diferenciar adesão de deposição. Adesão é governada por forças de pequeno alcance e é mais complexa do que a deposição, que é governada por forças de longo alcance.

Em processos de adesão, as forças de pequeno alcance são responsáveis pela formação da ligação primária, covalente e iônica, através de fortes interações com a superfície. Interações de energia intermediária, como pontes de hidrogênio, ligações de transferência de cargas eletrônicas, forças da dupla camada eletrônica e forças relacionadas com reações interfaciais também devem ser consideradas. Interações relativamente fracas, associadas com a formação da camada secundária também ocorrem. As forças envolvidas na adesão de partículas são divididas em três classes: interações atrativas de longo alcance, forças de curto alcance e reações interfaciais, (PETHICA, 2000).

3.9 Adesão Microbiana

Muitos microrganismos não se dividem se não estiverem em contato com

superfícies. Em superfícies inertes, as reações bioquímicas microbianas são dependentes da maneira de contato dos microrganismos. As células variam o modo de contato de maneira interativa. Após o contato inicial, estruturas celulares podem ser formadas e as membranas das células podem ser modificadas de diversas formas, por exemplo, aumentando a permeabilidade para permitir trocas químicas. A adesão celular num suporte sólido pode ser modificada devido à presença de proteínas no meio de cultura ou pela produção de substâncias extracelulares por determinadas espécies microbianas, as quais podem condicionar a superfície de adesão. Algumas proteínas competem, pela superfície com substâncias denominadas fatores de adesão e difusão (ASF), e dificultam a adesão (PETHICA, 2000).

A teoria atual sobre biocontato é explicada por meio da teoria de estabilidade dos colóides ou abrange uma ampla consideração fenomenológica em termos de energias superficiais. Isso envolve cálculos complexos para a determinação da energia de aproximação de uma célula a uma superfície de contato. A tensão superficial de uma célula ou de uma superfície de contato pode ser aproximada pelo uso dos ângulos de contato acoplados com a termodinâmica. Num sistema constituído por duas células ou uma célula e um sólido inerte, a energia livre total é reduzida pelo contato, de modo que a adesão ocorre segundo uma taxa controlada por determinadas barreiras que podem estar presentes (PETHICA, 2000).

Segundo PHETICA (2000), o conceito de molhabilidade considera a redução de energia livre total como resultado da diminuição da energia livre interfacial, identificada com a tensão superficial das membranas celulares. O trabalho de adesão (W) por unidade de área de contato é calculado como mostrado nas equações 3.1 e 3.2.

$$W = \sigma_{ab} - \sigma_a - \sigma_b \quad (3.1)$$

$$\sigma_{ab} = \sigma_{ah} + \sigma_{bh} \quad (3.2)$$

Nas expressões 3.1 e 3.2, σ_{ab} é a energia livre interfacial total por unidade de área de contato entre duas superfícies; a e b, separadas por uma distância (h), composta pelas contribuições σ_{ah} e σ_{bh} das superfícies opostas, sendo σ_a e σ_b as energias livres interfaciais ou tensões superficiais das duas superfícies distantes.

Esse conceito é útil por possibilitar a aplicação de procedimentos experimentais adequados para quantificar as mudanças nas tensões superficiais. O

procedimento mais proveitoso é a comparação de ângulos de contato entre modelos líquidos e a superfícies de culturas de células. Esses ângulos de contato são usados para obter a tensão de molhabilidade crítica (σ_c) para várias superfícies. Essa tensão é, na prática, a tensão de um líquido hipotético que apenas deveria molhar a superfície-teste com ângulo de contato zero (PETHICA, 2000).

A interpretação de ângulos de contato e cálculos de trabalho de adesão de líquidos a sólido utilizando a equação de Young são extensivamente abordados na literatura (ADANSON, 1990).

Uma gota macroscópica de líquido em contato com um sólido liso, homogêneo, isotrópico, rígido e insolúvel, em equilíbrio com a fase vapor na presença ou ausência de um campo gravitacional, exibirá um ângulo de contato (θ) governado pela equação 3.3 (equação de Young) : (ADANSON, 1990).

$$\sigma_{SV} = \sigma_{SL} + \sigma_{LV} \cos \theta \quad (3.3)$$

Na Equação 3.3, os subscritos referem-se às interfaces líquido/vapor (LV), sólido/vapor (SV) e sólido/líquido (SL). Relações similares se aplicam a gotas em contato com superfícies sólidas sob um segundo líquido. A equação de Young é particularmente utilizada para obtenção do trabalho de adesão de um líquido a um sólido, desde que as diferenças das tensões superficiais desconhecidas nas interfaces sólidas (SV e SL) possam ser eliminadas, resultando na equação 3.4.

$$W = \sigma_{LV}(1 + \cos \theta) \quad (3.4)$$

Esse conceito tem demonstrado ser útil no estudo da molhabilidade de polímeros de interesse biológico. Existem dúvidas, em muitos casos, sobre o valor de equilíbrio de θ , porque o ângulo de contato é diferente para avanço e retrocesso do menisco e porque a baixa rigidez de alguns sólidos implica em deformação plástica na gota. Para sistemas biológicos, a aplicação da equação de Young é mais qualitativa porque as condições de rigidez, homogeneidade e insolubilidade normalmente não são conhecidas. Podem ocorrer transformações na célula ou seus componentes podem ser transferidos para a fase líquida (ADANSON, 1990).

A técnica do ângulo de contato foi utilizada por VERRIER *et al.* (1988), no estudo de adesão de arqueas metanogênicas em superfícies poliméricas com diferentes graus de hidrofobicidade. Os autores observaram que superfícies hidrofóbicas, como polietileno, favoreceram a adesão de bactérias com parede

celular hidrofóbica, como *Methanothrix soehngenii* FE, e concluíram que a adesão de arqueas metanogênicas em suportes inertes é influenciada pela superfície celular e pelas características do suporte. PASSIG (1997) estudou a formação de biofilme em superfície de PVC e verificou comportamento semelhante ao observado por VERRIER *et al.* (1988), nesse mesmo tipo de material suporte, ressaltando a importância das características físicas e químicas das superfícies, particularmente a hidrofobicidade, para a formação e sustentação de biofilmes.

3.10 Interações Microbianas em Reatores Anaeróbios Tratando Águas Residuárias Contendo Sulfato

Em reatores anaeróbios tratando águas residuárias contendo sulfato, ocorrem interações entre BRS, BA e AM (ISA *et al.* 1986b; HARADA *et al.* 1994). O principal parâmetro que controla as interações entre BRS e microrganismos não redutores de sulfato é a relação $DQO/[SO_4^{2-}]$. Conforme já apresentado, em situações de relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ acima de 0,67, os processos sulfetogênicos e metanogênicos podem ocorrer simultaneamente e, abaixo desse valor, a sulfetogênese pode ser o processo dominante. A compreensão das interações entre BRS, BA e AM é importante para a aplicação de processos biológicos anaeróbios com o objetivo de remoção de sulfato de águas residuárias.

MIZUNO *et al.* (1994) estudaram o efeito da concentração de sulfato e do tempo de retenção celular (θ_C) sobre as interações entre AM e BRS, em reator em batelada a 35°C, utilizando butirato como doador de elétrons e fonte de carbono. Os autores observaram consumo total de butirato em todas as condições de relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ estudadas (1,5 a 148). Todavia, houve acúmulo de ácido acético quando os reatores foram submetidos a relações: $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 15 e θ_C de 5 dias; $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 6 e θ_C de 5 e 10 dias e, $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3 com θ_C de 10 e 20 dias. O acúmulo de ácido acético ocorreu devido à inibição dos microrganismos metanogênicos acetoclásticos, em consequência da presença de sulfeto total e sulfeto de hidrogênio livre.

De acordo com MIZUNO *et al.* (1994), a θ_C de 20 dias, o fluxo de elétrons (% da DQO total) utilizado pelas AM diminuiu de 98% para 34% com a diminuição da relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ de 148 para 1,5, ao passo que a porcentagem de fluxo de

elétrons utilizados pelas BRS aumentou de 2% para 67%. De outra forma, os autores verificaram que o fluxo de elétrons utilizado pelas BRS aumentou de 51% para 67%, quando θ_C foi diminuído de 20 para 5 dias, com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ de 1,5. Esses autores concluíram que, quando a relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ foi maior ou igual a 6, a produção de metano foi predominante. Mais de 80% do doador de elétrons foram utilizados pelas arqueas metanogênicas. Porém, quando a relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ foi de 1,5, a redução de sulfato foi predominante e mais de 50% do doador de elétrons foi utilizado pelas BRS. Houve rápido aumento do crescimento bacteriano no reator. Mesmo com a depleção do sulfato, as BRS foram quantificadas em grande número (10^6 a 10^8 NMP/mL), em todos os reatores.

Em condições de escassez de sulfato, butirato foi degradado a metano via acetato e hidrogênio pelas AM. De outra forma, sob altas concentrações de sulfato ($DQO/[SO_4^{2-}]$ menor ou igual a 1,5) butirato foi inicialmente degradado por BRS a acetato, e este degradado pelas AM e por BRS acetoclásticas.

Benzoato é um importante intermediário na degradação anaeróbia de compostos orgânicos aromáticos presentes em águas residuárias industriais. BRS são capazes de oxidar benzoato tanto em ambiente rico em sulfato como em ambientes onde há escassez desse íon. No primeiro caso, as BRS competem com as BSA pelo benzoato disponível e com as AM pelo hidrogênio e acetato. Quando há escassez de sulfato, as BRS interagem sintroficamente com as BSA e AM, oxidando uma fração do benzoato disponível produzindo acetato e H_2 , sustentando o crescimento de AM (LY *et al.*, 1995).

OMIL *et al.* (1997) observaram que a competição entre BRS e AM por acetato, em reator com lodo granular, foi influenciada pela velocidade ascensional e pelo pH. Os autores observaram que o lodo carregado para fora do reator devido às altas velocidades ascensionais aplicadas, continha alta capacidade em degradar acetato via sulfetogênese, ao passo que, sob essas condições, a atividade das AM acetoclásticas aumentou, sugerindo que as BRS acetoclásticas são mais susceptíveis aos efeitos da velocidade ascensional. O efeito do pH está relacionado com a toxicidade do H_2S .

CALLADO (1992) observou aumento da concentração de ácidos voláteis no efluente de reator anaeróbio com manta de lodo (UASB) tratando água residuária

sintética contendo glicose como a principal fonte de carbono e doador de elétrons, quando a concentração de sulfato no afluente foi superior a 2000 mg.L⁻¹. Possivelmente, nessas condições, as BRS oxidadoras incompletas converteram compostos orgânicos intermediários em acetato, e a inibição da atividade metanogênica acetoclástica resultou no aumento da concentração de ácidos voláteis, particularmente, ácido acético.

VAZOLLER *et al.* (1996) propuseram uma rota biológica de degradação de compostos orgânicos para explicar a interação metabólica entre as culturas presentes no lodo granulado, submetido a elevadas concentrações de sulfato de sódio. Os autores concluíram que, se doadores de elétrons complementares estiverem presentes, as interações entre as BRS e AM serão positivas, ou seja, de sintrofismo. Por exemplo, para o caso da degradação da glicose, os autores propuseram que essa substância é fermentada produzindo outras mais simples, como lactato, por exemplo. Em seguida, as BRS oxidam parcialmente lactato a acetato, totalmente disponibilizado para as AM, uma vez que as BRS que realizam a oxidação incompleta de seus substratos orgânicos não utilizam o acetato.

3.11 Efeitos do Sulfeto de Hidrogênio (H₂S) nos Processos Sulfetogênico e Metanogênico

Segundo SPEECE (1983) o íon sulfeto é nutriente requerido por AM e tem sido demonstrado que esses microrganismos contêm mais enxofre do que outros geralmente encontrados em sistemas anaeróbios. Entretanto, o acúmulo de sulfeto em reatores anaeróbios pode causar severa inibição dos processos de tratamento de águas residuárias e até a falência total desses sistemas. Grandes quantidades de sulfeto podem ocasionar problemas devidos à precipitação de ferro, cobalto e níquel, essenciais para AM.

Muitos dos estudos referentes com toxicidade do sulfeto tiveram como foco principal a inibição da metanogênese. Para o estabelecimento das concentrações máximas de sulfeto permissíveis em reatores anaeróbios, os efeitos sobre as BA e as BRS devem ser considerados. Presume-se que o efeito inibitório do sulfeto seja devido à forma não dissociada (H₂S), porque somente moléculas podem permear a membrana celular (LENS *et al.*, 1998).

Atravessando a parede celular, a molécula de H_2S pode desnaturar proteínas ou importantes enzimas metabólicas por meio da formação de sulfeto e dissulfeto entre as cadeias polipeptídicas. Sulfeto de hidrogênio pode interferir com o metabolismo assimilativo do enxofre e também afetar o pH intracelular.

Estudos sob condições mesofílicas e termofílicas demonstraram que lodo granular é menos inibido por H_2S do que lodos em suspensão, a valores de pH baixos e neutros, enquanto que o grau de inibição é muito similar em altos valores de pH, provavelmente devido ao gradiente de pH no interior dos grânulos (LENS *et al.*, 1998). Entretanto, a condição de crescimento local pode ser diferente do meio líquido devido à limitação de transferência de massa, o que explica porque altas concentrações de sulfeto podem ser toleradas em reatores operando com biofilmes, em pH neutro (MAILLACHERUVU *et al.*, 1993).

A inibição de AM devida ao sulfeto depende das características do lodo. Em lodos em suspensão, a inibição é determinada pela concentração de H_2S e pelo pH. Há relatos de que concentrações de H_2S variando entre 50 mg.L^{-1} e 130 mg.L^{-1} inibiu em 50% a atividade metanogênica (LENS *et al.*, 1998). Com exceção das bactérias que degradam propionato, as AM são mais sensíveis à presença de H_2S do que as BA, em lodos em suspensão ou granulares. PAULA JR. (1992) observou que concentrações de H_2S de até 100 mg.L^{-1} estimularam a metanogênese, ao passo que concentrações superiores exerceram efeito inibitório. Segundo CALLADO (1992), a metanogênese foi estimulada pela adição de sulfato até a concentração de 400 mg.L^{-1} e passou a ser inibida em concentrações superiores a 2000 mg.L^{-1} . Essa autora concluiu que a metanogênese não foi inibida pela competição entre BRS e AM e tampouco pelo aumento na concentração de sulfeto no biogás (de 4% para 6%), mas a inibição ocorreu, provavelmente, pela forma em que sulfato foi adicionado (sulfato de sódio). Outra observação importante, no referido trabalho, é que a relação $DQO/[SO_4^{2-}]$, variando entre 58,0 e 0,2, não foi parâmetro decisivo no desempenho global do reator em termos de remoção de DQO. Posteriormente, SAKAMOTO (1996) avaliou o comportamento do consórcio microbiano existente em lodo granulado anaeróbio metanogênico submetido a adições crescentes de sulfato. Similarmente às observações anteriores (PAULA JR., 1992 e CALLADO, 1992), essa autora observou estimulação da metanogênese com aumento na concentração de

sulfato de 284 mg.L^{-1} a 2130 mg.L^{-1} .

MAILLACHERUVU *et al.* (1993) relataram que concentrações de H_2S de 60 mg.L^{-1} a 75 mg.L^{-1} e concentrações de sulfeto dissolvido (SD) entre 150 mg.L^{-1} e 200 mg.L^{-1} causaram stress em sistemas completamente misturados e que concentrações maiores causaram a falência de sistemas, quando alimentados com acetato e propionato.

Sistemas alimentados com lactato e glicose suportaram concentrações de H_2S entre 100 mg.L^{-1} e 150 mg.L^{-1} e sulfeto dissolvido em concentrações entre 200 mg.L^{-1} e 400 mg.L^{-1} , com perdas de eficiência em remoção de DQO e de sulfato. Os filtros anaeróbios foram mais resistentes a concentrações elevadas de H_2S e SD, do que sistemas completamente misturados. Em filtro anaeróbio alimentado com propionato, concentrações de H_2S de 200 mg.L^{-1} e SD de 1.000 mg.L^{-1} foram toleradas, com pequeno efeito sobre o desempenho do sistema. Os autores observaram um comportamento cíclico da variação nas concentrações de H_2S , SD e da DQO devida aos ácidos voláteis, em sistemas alimentados com acetato, propionato, lactato e glicose. O conhecimento desse comportamento envolvendo crescimento, inibição e adaptação de BRS é considerado um dos principais fatores para desenvolvimento de um modelo unificado que descreva as interações entre BRS e AM.

MAILLACHERUVU *et al.* (1996), estudando a cinética de crescimento e utilização de substrato por seis grupos de microrganismos presentes em sistemas anaeróbios utilizados para tratamento de águas residuárias, observaram que a toxicidade devida ao sulfeto sobre os microrganismos estudados, afeta, progressivamente, na seguinte ordem: AM hidrogenotróficas, BRS hidrogenotrófica, BRS que oxidam incompletamente propionato, AM acetoclástica, fermentadores de propionato, BRS acetoclásticas. Esses resultados demonstraram que as vantagens cinética e termodinâmica das BRS acetoclásticas foram superadas pela sensibilidade desses microrganismos à toxicidade por sulfeto e que bactérias que fermentam propionato também foram sensíveis à presença de sulfeto.

O'FLAHERTY *et al.* (1999) adicionaram sulfeto, em concentrações crescentes, em lodo não alimentado com sulfato e observaram que as AM acetoclásticas foram os microrganismos mais sensíveis à inibição por sulfeto total

(ST) e por sulfeto de hidrogênio (H_2S), com IC50 (concentração que inibe o crescimento de 50% dos microrganismos) de 980 mg.L^{-1} e 69 mg.L^{-1} , respectivamente, em pH 8,0. Quando o pH foi reduzido para 6,4, o valor de IC50 de ST diminuiu para 220 mg.L^{-1} , com correspondente aumento na concentração de H_2S para 150 mg.L^{-1} . As bactérias consumidoras de butirato também foram sensíveis à toxicidade devida ao ST, com IC50 de 1.100 mg.L^{-1} , correspondendo à concentração de H_2S igual a 77 mg.L^{-1} em pH 8,0. Os autores observaram um fato interessante: o valor da IC50 para as bactérias consumidoras de propionato foi quase o dobro do valor para as AM acetoclásticas em pH 8,0, sendo que a degradação de propionato cessou quando ocorreu acúmulo de acetato. A causa dessa inibição foi atribuída ao aumento na pressão parcial de hidrogênio, já que as AM hidrogenofílicas foram inibidas pelas concentrações aplicadas de sulfeto. Também foi observado que a inibição da degradação de propionato foi irreversível, sugerindo que o efeito tóxico foi exercido pelo acetato sobre a população desses microrganismos, particularmente pelo acetato não dissociado, pois a toxicidade foi mais intensa quando o pH baixou de 8,0 para 6,5.

O efeito inibitório do H_2S sobre as BRS tem sido abordado na literatura sob controvérsias. ISA *et al.* (1986b) relataram que altos níveis de sulfeto de hidrogênio (até 1000 mg.L^{-1}) não afetaram o crescimento de BRS em reator anaeróbio de alta taxa, em escala de laboratório. Estudos posteriores revelaram que as BRS são inibidas por sulfeto dissolvido (MAILLACHERUVU *et al.* 1993).

O sulfeto de hidrogênio também causa efeito inibitório em bactérias aeróbias. Estudos realizados por CYBIS *et al.* (2002), indicaram que o sulfeto presente em concentrações entre $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ e $2,0 \text{ mg.L}^{-1}$ no efluente real de reator anaeróbio, tipo UASB, tratando esgoto de origem doméstica, alterou as propriedades cinéticas do lodo aeróbio de uma unidade subsequente, utilizada como pós-tratamento e pode ter inibido o processo de nitrificação.

3.12 Remoção de Sulfeto de Águas Residuárias

Efluentes líquidos contendo sulfeto são gerados por inúmeras atividades industriais, além de efluentes de processos anaeróbios de tratamento de águas residuárias. Sulfeto pode ser oxidado, empregando-se sistemas de aeração não

catalisados ou biocatalisados, eletroquimicamente, ou quimicamente, utilizando-se cloro, ozônio, permanganato de potássio ou peróxido de hidrogênio, com produção de enxofre elementar, tiosulfato ou sulfato, dependendo do pH. Outros métodos considerados convenientes para remoção de sulfeto, são: precipitação com íons metálicos e o *stripping* do H_2S . Entretanto, os consumos de substâncias e de energia, além da geração de resíduos constituem em desvantagens da utilização desses processos (LENS *et al.*, 1998).

SILVA *et al.* (2002) observaram, em reator operado sob condição sulfetogênica, em pontos de amostragem expostos à luz, o crescimento de bactérias que utilizam o íon sulfeto como doador de elétrons e realizam fotossíntese na ausência de oxigênio (fotossíntese anoxigênica). Os autores também observaram a deposição de precipitado amarelado sobre o material suporte utilizado para imobilização de BRS. A análise por meio de fluorescência de Raios X com dispersão de energia (EDXRF) revelou que o precipitado continha 74% do elemento enxofre e, dessa porcentagem, 87% correspondia à forma elementar (S^0) e o restante estava combinado com outros elementos, principalmente, sódio.

Sulfeto de hidrogênio e dióxido de enxofre podem ser convertidos biologicamente a enxofre elementar como representado na Figura 3.5 (JANSSEN *et al.*, 1999). O enxofre insolúvel pode ser removido do efluente tratado empregando-se processo de sedimentação. A recuperação de enxofre é potencialmente valiosa, pois pode ser utilizado na fabricação de ácido sulfúrico, insumo de ampla aplicação em processos industriais.

Figura 3.5. Ciclo Biológico do Enxofre (Adaptado de JANSEN *et al.*, 1999).

A oxidação biológica de sulfeto a enxofre elementar pode ocorrer em condições aeróbias, anóxicas ou anaeróbias. Sob essas condições, oxigênio, nitrato ou dióxido de carbono, respectivamente, são usados como aceptores de elétrons. Em condição anaeróbia, microrganismos do gênero *Chlorobiaceae* e *Chromatiaceae* utilizam os elétrons do sulfeto para a redução e assimilação de CO_2 e obtêm energia a partir da luz solar. A utilização desses microrganismos no processo pode requerer iluminação artificial para compensar a perda de luminosidade devida ao aumento da turbidez causado pelo enxofre produzido, o qual é insolúvel em água.

Outros microrganismos, não fotossintetizantes, oxidam sulfeto a enxofre ou a sulfato, reduzindo oxigênio e nitrato à H_2O e N_2 , respectivamente. Nesses processos, CO_2 é a principal fonte de carbono. *Thiobacillus spp.* tem alta afinidade por sulfeto, permitindo que sua utilização seja competitiva com os processos químicos oxidativos. Enxofre pode ser produzido mediante a oxidação incompleta de sulfeto por *Thiobacillus sp.*, conforme a equação 3.5:

Sob condições limitadas de oxigênio ($\text{OD} \leq 0,1 \text{ mg.L}^{-1}$) S^0 é o principal produto final da oxidação do sulfeto. Sua formação requer quatro vezes menos oxigênio, comparado com a oxidação completa, consumindo menos energia. O

enxofre residual pode ser recuperado por sedimentação. Entretanto, em reatores que são operados com alto tempo de retenção celular (θ_c), partículas de enxofre biologicamente produzidas formam agregados, nos quais *Thiobacillus spp.* se fixam. Sob condições de baixa tensão de cisalhamento, partículas com diâmetro médio de 3 mm sedimentam com velocidades maiores que 25 m/h. Isso permite que a carga máxima de sulfeto aplicada de $6 \text{ g HS}^-\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, em reator operando com células suspensas, seja aumentada para $14 \text{ g HS}^-\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, em reator com agregados. A imobilização de *Thiobacillus spp.* em agregados de S^0 ocorre melhor sob condições autotróficas. Em condições heterotróficas, S^0 constituinte dos agregados pode ser reduzido a sulfeto (JANSEN *et al.*, 1999).

O enxofre elementar biologicamente produzido tem coloração branca ou amarela palha, tem índice de refração maior que o da água e é classificado como líquido amorfo com base em resultados de difração de Raios X. O enxofre produzido por *Chromatium spp.* tem densidade igual a $1,22 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ (JANSEN *et al.*, 1999). Os glóbulos de enxofre se convertem para a forma cristalina S_8 quando são mantidos no estado líquido ou seco. Todavia, ainda não foi demonstrado se os glóbulos de enxofre consistem de enxofre puro. De acordo com JANSEN *et al.* (1999), muitas das propriedades dos glóbulos de enxofre biologicamente produzidos não combinam com as propriedades de qualquer forma alotrópica de enxofre elementar conhecida. Esses autores observaram diferenças, quanto à hidrofobicidade, entre suspensões de enxofre biologicamente produzido e de enxofre padrão, fluorescente, através de separação na mistura hexadecano-água. O padrão hidrofóbico amarelo do enxofre fluorescente permaneceu sobre a fase constituída por hexadecano, enquanto que o enxofre biologicamente produzido permaneceu abaixo da fase aquosa. Resultados de difração de Raios X indicaram que partículas de enxofre biologicamente produzidas foram parcialmente constituídas por cristais orto-rômnicos. O caráter hidrofílico do enxofre biologicamente produzido é conseqüente da presença de compostos anfílicos cobrindo os núcleos hidrofóbicos de S_8 . Esses compostos são politionatos de cadeia longa ($\text{SO}_3\text{-S}_n\text{-SO}_3$, n igual a 5 a 20) e foram detectados através de cromatografia líquida, a pH 8. Outros compostos podem ser responsáveis pela natureza hidrofílica do enxofre. Politionatos são quimicamente instáveis em pH 7, sendo essa a razão da ausência desses compostos sob essa condição.

Para a separação do enxofre elementar produzido em biorreatores podem ser empregados diversos processos, por exemplo: sedimentação, filtração, flotação, extração e processos de membrana. Evidentemente, a sedimentação das partículas de enxofre é o método de separação mais atrativo economicamente.

Os tamanhos dos agregados de enxofre relacionam-se diretamente com as taxas de carregamento de sulfeto no reator biológico. Segundo JANSEN *et al.* (1999), o mecanismo para a formação desses agregados não é completamente conhecido. Esses autores demonstraram que podem ocorrer interação eletrostática e repulsão estérica, bem como ligações entre partículas de enxofre e o microrganismos. As interações entre as partículas são fracas e, por isso, os agregados de enxofre são continuamente desfeitos pela ação de forças de cisalhamento, quando a suspensão no reator for vigorosamente agitada ou aerada. Os autores desenvolveram um reator de leito expandido (Figura 3.6) para a oxidação parcial de sulfeto a enxofre elementar.

Figura 3.6. Esquema de reator de leito expandido com unidade de aeração externa, utilizado para oxidação parcial de sulfeto e recuperação de enxofre elementar (JANSSEN *et al.*, 1999)

A configuração do reator apresentada pela Figura 3.6 foi concebida de forma a tentar-se diminuir o efeito das forças de cisalhamento. Nesse sistema, a aeração da fase líquida e a oxidação de sulfeto a enxofre elementar são processos espacialmente separados. Segundo os autores, após 50 dias de operação, 90% do lodo sedimentava com velocidade maior que 25 m.h^{-1} .

Outras configurações de reatores, como por exemplo, reatores operados em bateladas sequenciais (SBR), podem ser utilizados no processo de oxidação biológica do sulfeto com recuperação de enxofre. Todavia, os sistemas de mistura e aeração devem ser projetados de forma a resultar em menores forças de cisalhamento possíveis.

3.13 Considerações Finais

Apesar do processo de biodessulfatação ocorrer naturalmente em águas que contêm oxianions de enxofre, somente a partir da década de 80 pesquisas envolvendo esse processo foram intensificadas. Por exemplo, estudos realizados por ISA *et al.* (1986a) abordaram os aspectos técnicos do processo de redução de sulfato, relacionado à produção de metano na digestão anaeróbia em reatores de alta taxa, com biomassa imobilizada em espuma de poliuretano. Esses autores observaram que a atividade metanogênica sofreu inibição de até 12%, com concentrações de sulfato de 5000 mg.L⁻¹ e DQO média igual a 5076 mg.L⁻¹. Além disso, acetato como único doador de elétrons e fonte de carbono foi um substrato pior para BRS, que a mistura de acetato e etanol na proporção de 1,7:1, em massas. Outra observação importante neste trabalho foi que as AM acetoclásticas e hidrogenotróficas foram inibidas por sulfeto de hidrogênio livre (H₂S) na fase líquida, somente a concentrações superiores a 1000 mg.L⁻¹ devido, provavelmente, à adaptação desses microrganismos ao H₂S. As BRS foram também afetadas pelo H₂S, e não se sabe ainda se a inibição de AM e de BRS foi devida à toxicidade do H₂S (efeito direto) ou à indisponibilidade de elementos metálicos essenciais, em quantidades traços, para esses microrganismos, que poderiam estar precipitados como sulfetos (ISA *et al.*, 1986a). De acordo com ISA *et al.* (1986a), a presença de sulfato não apresentou efeito inibitório relevante sobre a metanogênese em reatores de alta taxa. Somente concentrações de sulfato superiores a 10 g.L⁻¹, afetaram a digestão anaeróbia não somente pelo sulfato ou sulfeto produzido, mas também pela concentração de sódio. Resultados semelhantes foram obtidos por CALLADO (1992) em estudo da toxicidade do sulfato sobre o processo metanogênico em reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB).

Uma importante revisão sobre o processo de biodessulfatação foi realizada

por LENS *et al* (1998). Esses autores ressaltaram que águas residuárias contendo sulfato e outros oxianions de enxofre têm origem em diversos processos industriais e que a presença desses compostos em águas residuárias devem ser consideradas no projeto de sistemas de tratamento. Isso previne a inibição da metanogênese e possibilita a aplicação de processos com finalidade de remoção de matéria orgânica, somente por BRS ou por BRS e microrganismos que oxidam sulfeto, utilizando o ciclo biológico do enxofre, remoção de metais pesados e nitrogênio e redução na produção de lodo (LENS *et.al.*,1998). Segundo esses autores, na digestão anaeróbia de água residuária contendo sulfato ocorre competição entre BRS e AM pelo doador de elétrons disponível. Essa competição não era prevista em modelos mais antigos para controle de reatores biológicos e nem havia métodos práticos para direcionar a competição entre esses dois tipos de microrganismos.

A aplicação de redução de sulfato em combinação com técnicas de remoção de sulfeto, e em particular, a oxidação parcial até enxofre elementar (S^0), pode ser usada para a remoção de sulfato de águas residuárias. Para se obter completa redução de sulfato, a água residuária deve ter relação DQO/[SO_4^{2-}] mínima de 0,67. Se essa relação for menor, será necessário adicionar doador de elétrons e fonte de carbono externa (por exemplo, metanol, etanol, ou H_2). A oxidação parcial de sulfeto a S^0 requer concentração de oxigênio dissolvido abaixo de $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ (LENS *et al.*, 1998).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Nessa seção são apresentados os materiais e métodos utilizados para o desenvolvimento do ensaio de imobilização da biomassa em materiais suporte inertes e para o estudo do desempenho dos reatores anaeróbios contendo biomassa imobilizada, operados em bateladas seqüenciais, com finalidade de remoção de sulfato de água residuária sintética com relação DQO/[SO₄²⁻] de 3,2; 1,3; e 0,4. Posteriormente, descreve-se a metodologia utilizada para avaliação do efeito de etanol sobre o processo sulfetogênico, como fonte externa de carbono e elétrons e, finalmente, a metodologia utilizada para estudo do processo de oxidação parcial do sulfeto por microrganismos em reator aeróbio operado em bateladas seqüenciais sob baixa concentração de oxigênio dissolvido.

4.1 Ensaio de Imobilização da Biomassa em Materiais suporte Inertes

4.1.1 Configuração dos Reatores

Essa etapa experimental teve como objetivo a avaliação de aderência microbiana em materiais suporte a serem utilizados no reator anaeróbio operado em bateladas seqüenciais. Os suportes foram avaliados em relação à capacidade de aderência de BRS. Para isso, foram utilizados reatores diferenciais com capacidade para 15 mL, confeccionados em vidro borossilicato, providos de tampas de teflon, e vedados com anéis de borracha tipo *o-ring*, como mostra a Figura 4.1.

4.1.3 Água Residuária Sintética

A água residuária sintética foi preparada com base na metodologia descrita por TORRES (1992). Dessa forma, o meio sintético teve a seguinte composição: extrato de carne ($0,42 \text{ g.L}^{-1}$), amido ($0,23 \text{ g.L}^{-1}$), sacarose ($0,07 \text{ g.L}^{-1}$), óleo de soja ($0,11 \text{ mL.L}^{-1}$), detergente neutro ($0,2 \text{ mL.L}^{-1}$), NaHCO_3 ($0,4 \text{ g.L}^{-1}$), NaCl (250 mg.L^{-1}), MgCl_2 ($7,0 \text{ mg.L}^{-1}$); CaCl_2 ($4,5 \text{ mg.L}^{-1}$) e Na_2SO_4 (3 g.L^{-1}). Nessa etapa, os valores da DQO e da concentração de sulfato da água residuária sintética foram $1234 (\pm 282) \text{ mg.L}^{-1}$ e $1375 (\pm 260) \text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente. Esses valores resultaram em relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ igual 0,9.

4.1.4 Procedimento Experimental

Quatro reatores diferenciais foram utilizados para cada tipo de MS investigado. Os reatores, preenchidos com os respectivos MS, foram submetidos à velocidade de escoamento superficial de $0,03 \text{ cm.s}^{-1}$, utilizando-se uma bomba peristáltica marca Watson-Marlow[®] para bombear 0,5 L de esgoto sintético contendo sulfato, que era acondicionado em frascos de Duran mantidos sob agitação magnética (Agitadores Mecânicos marca Fisatom[®]) e a 5° C (banho de gelo) para minimizar a ocorrência de reações bioquímicas fora dos reatores.

Na ocasião do bombeamento, antes de chegar aos reatores, o esgoto sintético passava por um banho-maria (Marconi[®]) mantido a 30° C . Os reatores foram mantidos numa incubadora (Marconi[®]) para garantir temperatura constante a 30° C . A água residuária era recirculada em circuito fechado e substituída a cada 24 horas (Figura 4.2).

Para iniciar a formação de biofilme, lodo granular proveniente de um reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB) alimentado com água residuária de abatedouro de aves (Avícola Dacar, SP), foi macerado em liquidificador e adicionado diariamente à água residuária sintética, de maneira a resultar em concentração de sólidos totais voláteis (STV) próxima a 100 mg.L^{-1} . Esse tipo de inóculo foi utilizado por apresentar satisfatória diversidade microbiana, inclusive de BRS.

Em intervalos de sete dias, retirava-se um reator com cada MS do aparato experimental. As matrizes colonizadas eram acondicionadas em frascos de

antibiótico com capacidade para 30 mL, sob fluxo de nitrogênio, lacradas e preservadas em geladeira até serem submetidas às análises de STV e a exames microbiológicos.

Para análise de STV, a biomassa retida em PU e em PE foi desprendida por agitação mecânica manual de frascos, adicionando-se 50% (v/v) de água destilada e pérolas de vidro em quantidade equivalente a quatro vezes o peso das matrizes de MS colonizadas.

A biomassa retida em CV e CE foi desprendida também através de agitação manual dos frascos contendo 50% (v/v) de água destilada. Nesse caso, não foram adicionadas pérolas de vidro e a quantificação do carvão perdido por desgaste devido ao atrito entre as partículas foi obtida pela realização de um ensaio-controle (branco), com amostras de CV isentas de biomassa previamente hidratadas com água de torneira.

Esse estudo foi realizado em duas etapas, inicialmente com PU e CV, seguido do ensaio com CE e PE.

Figura 4.2. Instalação Experimental para Ensaio em Reatores Diferenciais:

1- Reservatórios Contendo Substrato Refrigerado e Sob Agitação; 2- Bomba Peristáltica; 3 – Banho Maria (30°C); 4 –Distribuição dos Reatores Diferenciais.

4.1.5 Monitoramento e Procedimentos Analíticos

Os exames de microscopia ótica (luz comum, contraste de fase e fluorescência) foram realizados utilizando-se microscópio Olympus BX60-FLA com

sistema de aquisição de imagem (*software Image Pro-Plus*[®]) e os exames de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizados utilizando-se microscópio eletrônico de varredura DSM-960 marca ZEISS no IFSC, após tratamento das amostras conforme metodologia descrita por NATION (1983) e adaptada por ARAÚJO (1995). Os grupos microbianos aderidos nos MS foram avaliadas através da técnica de biologia molecular de hibridização *in-situ* (FISH) por HIRASAWA (2003).

A hidrofobicidade da superfície da biomassa e dos MS foi determinada pela técnica do ângulo de contato formado por uma gota de água sobre a superfície dos materiais. Os materiais eram dispostos sobre uma lâmina de vidro, e na face paralela a esta se adicionava 1 µL de água destilada. Um microscópio marca MM Optics[®], com aumento de 20 vezes, foi acoplado a uma câmara de vídeo LG[®] modelo CCM. As imagens eram armazenadas num sistema de aquisição compatível com o sistema operacional Windows[®]. O ângulo de contato foi medido através das ferramentas disponíveis no software Corel-Draw[®]. Esse procedimento foi desenvolvido no Instituto de Física de São Carlos (IFSC-USP).

As variáveis DQO (demanda química de oxigênio) e concentração de sulfato ($[\text{SO}_4^{2-}]$) foram determinadas semanalmente conforme os métodos 5520 e 4500-Sulfate, respectivamente (APHA, 1998).

4.2 Operação dos Reatores em Batelada (ASBBR) - Processo de Biodessulfatação

4.2.1 Configuração dos Reatores

Nessa etapa experimental foram concebidos dois reatores idênticos de acrílico com volume total de 10 litros para operar em bateladas sequenciais, sendo construídos na oficina mecânica da EESC-USP nas seguintes dimensões: diâmetro interno de 220 mm e altura de 258 mm. A concepção deste reator foi baseada na proposta original de RATUSZNEI *et al.* (2000) com modificações propostas por CUBAS *et al.* (2004).

Na parte inferior de cada reator havia uma zona de acúmulo de lodo de geometria cônica perfazendo um volume de 450 mL (4,5% do volume total de cada

reator). Logo acima da zona de lodo, foram alocadas tomadas para adaptação das mangueiras de alimentação e drenagem de líquido, e no fundo, uma tomada para adaptação de válvula para drenagem de lodo. Na parte central havia um ponto de amostragem de líquido.

Na parte interna de cada reator foi adaptado um anel de acrílico para sustentação de um cesto confeccionado com chapa de aço inox perfurado com 180 milímetros de diâmetro e altura, utilizado para acondicionamento dos MS.

Os reatores foram providos de sistema de agitação mecânica marca Fisaton[®], modelo 713D, com impelidores tipos turbina de 6 cm de diâmetro. O eixo do agitador foi alocado no centro de cada reator, dentro do cesto de inox perfurado para evitar o contato com o MS. A Figura 4.3 apresenta um esquema detalhado do reator anaeróbio com biomassa imobilizada e operado em bateladas sequenciais. A bucha deslizante de teflon que revestia o furo central na tampa do reator foi substituída por um tubo de acrílico com diâmetro suficiente para possibilitar o funcionamento do eixo do agitador livre de atrito. O tubo de acrílico era imerso no líquido durante a operação dos reatores para evitar o escape de gás.

Figura 4.3. Reator Anaeróbio Utilizado para Operação em Bateladas Sequenciais e com Biomassa Imobilizada em Material Suporte Inerte.

4.2.2 Materiais Suporte Utilizados para Imobilização de Microrganismos

Mediante ao estudo de adesão, descrito no item 4.1, foram selecionados dois MS para imobilizar, particularmente, BRS: CV e PU. Os dois materiais foram cortados em cubos com 1 cm de aresta e acondicionados no cesto de aço inoxidável no interior de cada reator. As características físicas desses MS são idênticas às apresentadas no item 4.1.2.

4.2.3 Instalação Experimental

Os reatores anaeróbios contendo os MS devidamente acondicionados foram instalados no interior de uma câmara de madeira, com temperatura controlada a $30 \pm 2^\circ\text{C}$ por um sistema de medição e controle de temperatura, marca T&S[®]. A

Figura 4.4 apresenta a instalação experimental, que inclui as bombas dosadoras marca Prominent® utilizadas para alimentação e descarga do efluente dos reatores.

Figura 4.4. Instalação Experimental – ASBBR

4.2.4 Água Residuária Sintética

O processo de biodessulfatação foi estudado em duas etapas. Inicialmente, avaliou-se o desempenho dos ASBBR's contendo PU e CV no tratamento de água residuária sintética com relações DQO/[SO₄²⁻] iguais a 3,2; 1,3; e 0,4. Nessas condições, sulfato de sódio foi adicionado ao meio, preparado conforme descrito no item 4.1.3, nas concentrações: 500 mg.L⁻¹; 1200 mg.L⁻¹, e 3000 mg.L⁻¹. Posteriormente, avaliou-se o efeito de etanol sobre o processo sulfetogênico. Na condição em que os reatores apresentaram pior desempenho em remoção de sulfato adicionou-se etanol ao meio, em quantidade estequiométrica, de acordo com a equação 4.1, que representa a oxidação incompleta de etanol pela maioria das BRS (HANSEN, 1994).

Em cada relação DQO/[SO₄²⁻] inicial avaliada e no estudo do efeito de etanol sobre o processo sulfetogênico, foram obtidos perfis temporais das variáveis DQO,

[SO₄²⁻] e ácidos voláteis, particularmente, ácido acético, para modelação e obtenção de parâmetros cinéticos.

4.2.5 Monitoramento e Procedimentos Analíticos

Desde a partida, incluindo o período de inoculação os reatores foram monitorados com frequência mínima de duas vezes por semana. As variáveis analisadas na fase líquida foram: pH; potencial redox (ORP), alcalinidade total (AT), alcalinidade a bicarbonato (AB), ácidos totais voláteis (ATV), DQO, [SO₄²⁻], concentração de sulfeto total ([ST]), sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos voláteis (SSV); concentração de ácido acético ([Hac]). Na fase gasosa monitorou-se a concentração de metano (CH₄) e sulfeto de hidrogênio (H₂S). Na fase sólida, aderida aos materiais suporte, foram determinadas as concentrações de SSV e realizadas análises microbiológicas com a finalidade de observar as formas morfológicas e quantificar os microrganismos pertencentes aos Domínios *Archaea* e *Bacteria*, incluindo as espécies de BRS por FISH (Hibridação Fluorescente *in situ*).

A hibridação fluorescente *in situ* (FISH) foi utilizada para quantificar e caracterizar os microrganismos presentes nas porções inferior, meio, e superior dos ASBBR's contendo biomassa imobilizada em PU e CV, tratando água residuária sintética com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 0,4. A metodologia utilizada foi a mesma descrita por DOMINGUES (2002).

As amostras foram hibridadas com sondas de oligonucleotídeos fluorescentes, as quais são específicas para as regiões do RNAr 16S, correspondentes aos Domínios *Archaea* e *Bacteria* e para o grupo geral das BRS Gram negativas da subdivisão Delta de Proteobacteria. Todas as sondas foram marcadas com o corante fluorescente rodamina, na extremidade 5'. As especificidades das sondas, as seqüências de bases dos oligonucleotídeos e as posições de hibridação do RNAr 16S estão descritas na Tabela 4.2.

A sonda NON338, cuja seqüência de nucleotídeos não se hibrida a nenhum RNAr microbiano conhecido atualmente (MANZ *et al.*, 1992), foi utilizada como controle negativo para verificar a ocorrência de hibridações não específicas e de células auto-fluorescentes.

As sondas EUB338 e SRB385 foram utilizadas para detectar os organismos pertencentes ao Domínio *Bacteria* e ao grupo geral das BRS, respectivamente

(AMANN *et al.*, 1990). Para o Domínio *Archaea* foi utilizada a sonda ARC915 (RASKIN *et al.*, 1994).

Tabela 4.2. Sondas de Oligonucleotídeos Utilizadas na Hibridação *in situ*.

Sonda	Especificidade	Seqüência (5'→3')*	Referência
NON338	Controle Negativo	ACTCCTACGGGAGGCAGC	MANZ <i>et al.</i> , 1992
EUB338	Domínio <i>Bacteria</i>	GCTGCCTCCCGTAGGAGT	AMANN <i>et al.</i> , 1990
SRB385	Bactérias redutoras de sulfato	CGGCGTCGCTGCGTCAGG	AMANN <i>et al.</i> , 1990
ARC915	Domínio <i>Archaea</i>	GTGCTCCCCCGCCAATTCCT	RASKIN, 1994

*Seqüência de bases obtidas por AMANN *et al.* (1995).

Para cada condição estudada foram retiradas 3 cubos de PU, com auxílio de pinça estéril, transferidos para frasco de antibiótico contendo 2,5 g de pérolas de vidro e 5,0 mL de tampão salino fosfato (PBS: 130mM NaCl, 7mM Na₂HPO₄, 3mM Na₂H₂ PO₄). Este sistema foi mantido sob atmosfera de N₂ e CO₂ (70:30) por 5 minutos, submetido à agitação manual em ângulo de 45°, durante 20 minutos, e agitado em vórtex por mais 5 minutos para adequada separação dos arranjos celulares. Após o desprendimento, as amostras foram acondicionadas, em duplicata, em tubos de microcentrífuga de 1,5 mL para o procedimento de fixação.

Para a fixação, as amostras acondicionadas foram centrifugadas sob refrigeração (4°C), durante 1 minuto a 9000 rpm, lavadas duas vezes com o mesmo volume em PBS (10x); ressuspensas em 200 µL de PBS (10x) mais 600 µL de tampão de fixação com paraformaldeído 4%, por 14 horas a 4 °C. Após esse período, as amostras foram lavadas 3 vezes, por 1 minuto, em PBS (10x) e armazenadas a -20 °C em tubos de microcentrífuga contendo 50% de etanol e 50% de PBS (10x).

Para a realização da hibridação *in situ* foram utilizadas lâminas de vidro (CEL-LINE/ERIE SCIENTIFIC CO.), revestidas com teflon, com 12 concavidades, cada uma com 7 mm de diâmetro (Figura 4.5).

As lâminas foram mantidas em solução de hidróxido de potássio 10%, durante 40 minutos, enxaguadas com água destilada e secas em estufa a 45°C (DOMINGUES, 2002).

Figura 4.5. Lâmina de Vidro Revestida com Teflon Utilizada na Técnica de FISH.

Posteriormente, as amostras mantidas em 50% de etanol/PBS (1x) foram homogeneizadas em agitador de tubos por 1 minuto. Com auxílio de pipeta automática, uma alíquota de 1 μ L de cada amostra foi espalhada sobre o respectivo pocinho da lâmina de vidro, a qual foi subsequenteiramente colocada em forno de hibridação a 45°C, durante 20 minutos, para aumentar a adesão das células sobre a lâmina. Em seguida, as amostras foram desidratadas em séries gradativas de etanol 50%, 80% e 100%, durante 3 minutos cada.

Após a desidratação, as amostras foram cobertas com 9 μ L de tampão de hibridação pré-aquecido em temperatura específica e 1 μ L de sonda. As composições dos tampões de hibridação, de lavagem e as respectivas temperaturas de hibridação para cada sonda utilizada seguiram o protocolo descrito na Tabela 4.3.

Após a hibridação, a lâmina com as amostras foi mergulhada e mantida em tubo Falcon contendo 50 mL do respectivo tampão de lavagem. As temperaturas e tempos de lavagem específicos estão apresentados na Tabela 4.3. Posteriormente, as lâminas foram lavadas com água destilada, para remoção dos sais, e secadas a temperatura ambiente e na ausência de luz.

Para a contagem total de células, as amostras foram coradas com 8 μ L, por pocinho, de solução DAPI (4',6-diamidino-2-fenil indol), 10 μ g/mL, durante 10 minutos, em temperatura ambiente e na ausência de luz. Em seguida a lâmina foi lavada com água destilada para remover o excesso do corante DAPI e foram aplicados 1,4 μ L de glicerol/PBS (80/20 v/v) em cada pocinho, os quais foram subsequenteiramente cobertos por lamínulas para serem observados em microscópio de

fluorescência LEICA DMLB, usando filtros específicos para DAPI e rodamina. As imagens foram fotografadas e congeladas com sistema de câmera de vídeo digital Optronics com tempos de exposição entre 0,5 e 4,0 segundos para epifluorescência.

Para a contagem das células, duas imagens foram congeladas e fotografadas, em mesmo campo microscópico, uma correspondente a excitação do DAPI, referente ao total de células, e a outra correspondente a excitação da rodamina, referente as células hibridadas com as sondas específicas. Antes da contagem, as duas imagens foram sobrepostas para confirmar se as partículas coradas com rodamina eram realmente células hibridadas, ou seja, se correspondiam às células coradas com DAPI.

Para cada sonda e amostra foram contadas entre 800 e 1000 células coradas com DAPI em 20 a 25 campos microscópicos aleatórios. A porcentagem de células hibridadas com as sondas específicas, em cada campo microscópico, foi calculada em relação ao total de células coradas com DAPI.

Os microrganismos aderidos em PU e CV nos ASBBR's tratando água residuária sintética com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2 foram avaliados e caracterizados por FISH em trabalho de mestrado realizado por HIRASAWA (2003).

As análises de pH, ORP, $[SO_4^{2-}]$, [ST], DQO e STV, foram realizadas em conformidade com os métodos 4500- H^+ , 2580, 4500-Sulfate, 4500-Sulfide, 5220, e 2540, respectivamente (APHA, 1998). AT e AB foram determinadas conforme metodologia adaptada por RYPLEY *et al.* (1986) da original de DILLALO & ALBERTSON (1961) e ATV foram determinados de acordo com a metodologia descrita por DILLALO & ALBERTSON (1961). A concentração de ácidos voláteis, Hac em particular, foi obtida por cromatografia gasosa, utilizando-se cromatógrafo a gás HP 6890 equipado com detector de ionização de chama e coluna HP INNOWAX, 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm de espessura de filme, e hidrogênio superseco como gás de arraste num fluxo de 2,0 mL.min⁻¹, (MORAES *et al.*, 2000). Os exames microbiológicos foram realizados conforme descrito no item 3.1.5. Os gases foram analisados por cromatografia gasosa, utilizando-se cromatógrafo marca Gow-Mac equipado com detector de condutividade térmica (série 150) e coluna "Porapack-Q" (comprimento de 2 metros, e diâmetro interno de 1/4 pol – 80/100 mesh), utilizando hidrogênio superseco como gás de arraste a vazão de 1 mL.s⁻¹. Para

detecção de H₂S utilizou-se medidor de gases com células eletroquímicas marca Testo[®].

Tabela 4. 3. Protocolos de hibridação.

Sondas	Temperatura de hibridação	Tampão de hibridação	Temperatura e tempo de lavagem	Tampão de lavagem
NON338	46°C por 1,5h câmara úmida	0,9M NaCl, 20mM Tris-HCl, 10mM EDTA, 0,01% SDS (pH 7,2) + 20% formamida	48°C por 15 minutos	20mM Tris-HCl, 10mM EDTA, 0,01% SDS (pH 7,2) + 225mM NaCl
EUB338	46°C por 1,5h câmara úmida	0,9M NaCl, 20mM Tris-HCl, 10mM EDTA, 0,01% SDS (pH 7,2) + 20% formamida	48°C por 15 minutos	20mM Tris-HCl, 10mM EDTA, 0,01% SDS (pH 7,2) + 225mM NaCl
SRB385	45°C por 2,0h câmara úmida	0,9M NaCl, 20mM Tris-HCl, 10mM EDTA, 0,01% SDS (pH 7,2) + 30% formamida	48°C por 20 minutos	20mM Tris-HCl, 10mM EDTA, 0,01% SDS (pH 7,2) + 80mM NaCl
ARC915	45°C por 2,0h câmara úmida	0,9M NaCl, 20mM Tris-HCl, 10mM EDTA, 0,01% SDS (pH 7,2) + 20% formamida	48°C por 20 minutos	20mM Tris-HCl, 10mM EDTA, 0,01% SDS (pH 7,2) + 225mM NaCl

Fonte: Raskin *et al.* (1994), Domingues (2004).

4.2.6 Ensaio Hidrodinâmico

O comportamento hidrodinâmico dos reatores foi avaliado através do teste de estímulo-resposta ao pulso utilizando-se, opcionalmente, ácido sulfúrico diluído (1 M) como traçador e monitorando-se o pH em função do tempo. Os reatores contendo os MS foram carregados com água, e o teste foi realizado para frequências de agitação de 90, 180, 300, 500 e 800 rpm. Os dados foram obtidos por um medidor digital de pH e íons Orion-920A[®] e depois armazenados em software Orion Data-Colect[®], sendo posteriormente tratados com o uso do software Microcal Origin 6.0[®],

para ajuste de modelo matemático e cálculo do tempo de mistura (t_M). Com base nos resultados desse estudo, definiu-se a frequência de agitação a ser empregada nos reatores

Os valores do pH em resposta ao pulso com H_2SO_4 1 M para cada frequência de agitação foram normalizados e plotados em função do tempo.

4.2.7 Avaliação do Desempenho dos ASBBR's no Tratamento de Água Residuária Sintética com Relações DQO/SO_4^{2-} de 3,2, 1,3, e 0,4.

Os ASBBR's foram operados em ciclos de 24 h, compreendendo as etapas de enchimento, reação e descarga. As etapas de enchimento e descarga foram realizadas com tempo de duração de 12 minutos, para cada operação. O funcionamento das bombas dosadoras foi controlado por temporizadores previamente programados. A frequência de agitação de 300 rpm foi estabelecida com base no estudo do comportamento hidrodinâmico dos reatores descrito anteriormente.

A água residuária era preparada em recipiente de plástico e mantida a 5°C em refrigerador para minimizar as reações bioquímicas fora dos reatores. A distância entre o reservatório no refrigerador e o reator era aproximadamente 3 metros. A linha de alimentação foi constituída de mangueira de polietileno com diâmetro interno de 9 mm. O volume de meio retido na linha de alimentação, fora do refrigerador, foi de aproximadamente 270 mL (5% do volume útil dos reatores). Dessa forma, a atividade microbiana nesse trecho foi considerada desprezível.

4.2.7.1 Estratégia de Inoculação

O inóculo foi incorporado ao substrato durante 30 dias, em quantidade suficiente para resultar em concentração de STV em torno de 300 mg.L⁻¹. Durante essa operação, adicionava-se diariamente o lodo macerado no reservatório de substrato e acionava-se manualmente a bomba de alimentação. Após esse período, matrizes de PU e CV foram retiradas, para exames microbiológicos e determinação de STV. Posteriormente, os reatores passaram a ser alimentados automaticamente com água residuária sintética sem adição de biomassa. Essa estratégia de inoculação foi adotada porque o material suporte dos reatores era renovado a cada início de operação, quando era alterada a concentração de sulfato da água residuária. Embora exista um protocolo de inoculação de matrizes de espuma de poliuretano, descrito

por ZAIAT *et al.* (1994), este não se aplica ao carvão vegetal. Como o objetivo deste trabalho foi comparar o desempenho de reatores preenchidos com diferentes tipos de material suporte o procedimento de inoculação teve que ser igual para ambos.

Para captação e estimativa do volume de biogás que “escapava” juntamente com o efluente dos ASBBR’s adaptou-se um reservatório de 10 Litros selado com rolha de borracha, com entrada para o efluente dos reatores e saída de biogás conectada a um sistema de medição de volume por deslocamento de líquido (Figura 4.6). Do volume total de água deslocado descontava-se o volume de efluente dos ASBBR’s contido no reservatório obtendo-se, indiretamente, o volume estimado de biogás.

Figura 4.6. Aparato para Captação e Medição de Volume dos Gases dos ASBBR.

4.2.7.2 Obtenção de Parâmetros Cinéticos de Consumo de Substratos Orgânicos pelas Bactérias Acidogênicas (BA), Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS) e Arqueas Metanogênicas (AM)

Quando os reatores apresentaram estabilidade em remoção de sulfato, realizou-se o perfil temporal dos parâmetros DQO, $[\text{SO}_4^{2-}]$ e ácidos voláteis, para posterior avaliação da cinética de utilização de substrato por BRS, BA e AM. As velocidades de consumo de matéria orgânica e de compostos intermediários da

digestão anaeróbia por esses microrganismos foram determinadas e avaliadas nas três situações de relação DQO/[SO₄²⁻].

4.2.8 Avaliação do Efeito de Etanol Sobre o Processo de Biodessulfatação.

O efeito de etanol sobre o processo de biodessulfatação foi avaliado, assim como a via de utilização dessa substância pelas BRS. Essa etapa foi realizada para obter parâmetros que conduzissem à otimização da dosagem de etanol quando este for opcionalmente adicionado em águas residuárias deficientes em doadores de elétrons e fonte de carbono, e a finalidade do tratamento for a remoção de sulfato.

Inicialmente, os ASBBRs contendo PU e CV como MS foram alimentados com água residuária sintética, preparada com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 0,4. Essa foi a condição mais desfavorável observada para o processo de biodessulfatação, nesse trabalho, sem a adição de fonte externa de carbono e doador de elétrons. Dessa forma, quando a [SO₄²⁻] no efluente dos reatores não variou significativamente, etanol passou a ser adicionado na água residuária sintética em quantidade estequiométrica (equação 4.1). O procedimento de alimentação ocorreu como descrito no item 4.2.7.

Nessa etapa experimental os reatores não foram inoculados, ou seja, a biomassa que se desenvolveu durante o tratamento de água residuária sintética com relação DQO/[SO₄²⁻] de 3,2 foi mantida em cada reator, seguindo-se apenas o período de adaptação à água residuária sintética com relação DQO/[SO₄²⁻] de 0,4.

Quando os reatores apresentaram condição de estabilidade em redução de sulfato da água residuária sintética contendo etanol, realizou-se o perfil temporal dos parâmetros DQO, [SO₄²⁻], ácidos voláteis para obtenção de parâmetros cinéticos após ajuste de modelo.

4.2.9 Modelação Cinética

Com o intuito de identificar as principais rotas de consumo de substratos orgânicos que ocorreram nos ASBBR's, nesse trabalho, propôs-se um modelo cinético envolvendo reações de primeira e segunda ordens. O modelo foi baseado no diagrama adaptado por COLLERAN *et al.* (1995) que representa a degradação de moléculas poliméricas em ambiente anaeróbio e com presença de sulfato. De acordo com o diagrama adaptado (Figura 4.7), as BRS competem com BA por

intermediários da digestão anaeróbia de matéria orgânica (succinato, propionato, piruvato, etc), competem com BA e AM por hidrogênio e com AM acetoclásticas por ácido acético. Além disso, ocorre competição interespecífica de BRS por intermediários de fermentação, pois existem espécies que oxidam parcialmente e outras que têm a capacidade de oxidar completamente esses compostos (COLLERAN *et al.*, 1995).

Inicialmente, o modelo cinético foi estabelecido considerando duas vias principais de degradação da matéria orgânica: uma via acetogênica, representada pelo metabolismo de BRS e BA produtoras de ácido acético; e uma via não-acetogênica que corresponde à oxidação direta dos compostos monoméricos envolvendo BA, BRS e AM hidrogenotróficas. Na via acetogênica considerou-se que BRS competem com BA por compostos orgânicos monoméricos e por intermediários de fermentação (butirato, propionato, succinato, etc) e com as AM acetoclásticas por acetato. Na via não-acetogênica considerou-se a competição entre BRS e BA por compostos orgânicos monoméricos e intermediários de fermentação, e com AM por hidrogênio.

Figura 4.7. Rota de Degradação de Compostos Orgânicos Monoméricos em Ambiente Anaeróbico com Presença de Sulfato (Adaptado de COLLERAN, 1995).

4.3 Oxidação Parcial do Sulfeto em Reator Aeróbio

O efluente de um ASBBR sulfetogênico foi tratado num reator aeróbio operado em bateladas sequenciais (SBBR) sob baixa concentração de OD (entre 0,1 e 0,5 mg.L⁻¹) para promover a oxidação parcial do sulfeto a enxofre por microrganismos. Os dois reatores continham biomassa imobilizada em PU.

A configuração do SBBR foi idêntica a do ASBBR, contendo pedra porosa adaptada à mangueira de polietileno que foi conectada a um pequeno compressor de ar, do tipo utilizado em aquários que funcionava intermitentemente, acionado e desligado por temporizador. A vazão de ar aplicada no SBBR era controlada por válvula de plástico utilizada em aquários. Os reatores ASBBR e SBBR foram operados em ciclos de 24 horas compreendidos pelas etapas: enchimento (12 min), reação (23,6 h) e descarga (12 min).

Decidiu-se não inocular o SBBR em virtude da presença de morfologias semelhantes a microrganismos que oxidam sulfeto a enxofre elementar no efluente do ASBBR, observadas por microscopia ótica. Dessa forma, condições físicas e químicas adequadas para o cultivo dessas espécies microbianas foram estabelecidas.

Estavam previstas diluições do efluente do reator sulfetogênico para que fosse minimizado o efeito da toxicidade do sulfeto. Todavia, observações microscópicas e a existência de enxofre na superfície do reator sulfetogênico conduziram à partida do SBBR com o efluente do ASBBR sem diluição. Dessa forma a saída do ASBBR foi conectada na entrada do SBBR por mangueira de polietileno com diâmetro interno de 9 mm. O efluente do SBBR era acondicionado em recipiente de plástico para posterior descarte.

As principais variáveis monitoradas durante a operação desse sistema foram: pH, DQO, OD, ORP, [SO₄²⁻] e [ST]. Enxofre elementar presente no lodo retido pelo material suporte foi analisado por EDXRF (Fluorescência de Raios-X com Dispersão de Energia) no IQSC/USP.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Ensaio de Imobilização de Biomassa em Suportes Inertes

5.1.1 Resultados das Análises Físico-Químicas

Na primeira etapa dessa fase do trabalho, a DQO e a $[\text{SO}_4^{2-}]$ na água residuária sintética foram: $1.234 \pm 282 \text{ mg.L}^{-1}$ e $1.375 \pm 260 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente, resultando em relação DQO/ $[\text{SO}_4^{2-}]$ de 0,9. Após 7 dias de operação em regime de batelada sequencial com ciclos de 24 horas, os reatores com PU, CV e CE, apresentaram eficiências em remoção de DQO acima de 85%. Nos reatores com PE, eficiência superior a 85% foi obtida somente a partir do 14º dia de operação. As eficiências em remoção de DQO durante os ciclos operacionais nos sistemas com PU, CV, CE e PE foram 86% ($\pm 3\%$), 90% ($\pm 3\%$), 86% ($\pm 4\%$) e 84% ($\pm 9\%$), respectivamente. A Tabela 5.1 mostra os valores de DQO determinados ao final das bateladas nos dias de coleta das amostras de MS colonizado.

Tabela 5.1. Valores de DQO obtidos ao final das bateladas. Os valores das eficiências em remoção de DQO (%) são apresentados entre parênteses.

Tempo (d)	PU	CV	CE	PE
7	179 (85%)	122 (90%)	154 (88%)	225 (82%)
14	140 (89%)	110 (91%)	130 (89%)	174 (86%)
21	151 (88%)	101 (92%)	122 (90%)	123 (90%)
28	215 (83%)	164 (87%)	269 (78%)	180 (85%)

Redução de sulfato somente foi observada no 28º dia, somente nos reatores com PU e CV, com eficiências de 39% e 45%, respectivamente, como mostra a Tabela 5.2.

Redução de sulfato ocorrendo em reatores contendo células imobilizadas em espuma de poliuretano foi observada em trabalhos anteriores realizados no Laboratório de Processos Biológicos da EESC (CADAVID *et al.*, 1999, SILVA *et al.*

2002 e VELA *et al.*, 2002). Apesar das diferenças entre as características das águas residuárias estudadas, em todos os trabalhos esse material demonstrou ser um bom suporte para imobilizar BRS.

O fato da redução de sulfato ter sido evidenciada somente no 28^o dia pode ser devido às condições de inoculação e alimentação dos reatores, uma vez que os microrganismos foram adaptados ao substrato durante os ciclos operacionais.

Durante a fase experimental, não foi observada redução de sulfato nos reatores contendo CE e PE.

Tabela 5.2. Concentrações de Sulfato no Efluente dos Reatores Diferenciais.

Tempo (d)	PU	CV	CE	PE
7	1120	1060	1550	1600
14	1600	1600	1550	1600
21	1600	1650	n.a.	n.a.
28	850	800	1600	1650

n.a. – Não Analisado

A Figura 5.1 representa a adesão de microrganismos (quantificada como SSV) em PU, e a Figura 5.2 em CV, CE e PE ao longo do experimento. Os resultados indicam que as matrizes de PU apresentaram a melhor adesão específica de biomassa (120-872 mg SSV.g⁻¹ MS), seguida por CV (56-84 mg SSV.g⁻¹ MS), CE (22-47 mg SSV.g⁻¹ MS) e PE (2-23 mg SSV.g⁻¹ MS). Entretanto, os reatores com CV e CE apresentaram a maior retenção absoluta de biomassa (Figura 5.3), atingindo 21 e 25 mg SSV.mL⁻¹ em CE e CV, respectivamente, no 28^o dia de operação. No mesmo período, a concentração absoluta de biomassa foi cerca de 10 mg SSV.mL⁻¹ para os suportes poliméricos. A adesão de microrganismos em carvão foi favorecida, provavelmente, pelas características físicas e químicas da superfície desse material, principalmente, pela porosidade e capacidade de adsorção.

Figura 5.1. Concentração de Biomassa Aderida por mg de PU (Concentração Específica) nos Reatores Diferenciais.

Figura 5.2. Concentração Específica de Biomassa em: (a) CV, (b) CE e, (c) PE nos Reatores Diferenciais.

Figura 5.3. Concentração Absoluta de Biomassa (STV) nos Reatores Diferenciais.

5.1.2 Resultados dos Exames Microbiológicos

5.1.2.1 Inóculo

A Tabela 5.3 apresenta as formas morfológicas observadas no inóculo, por microscopia ótica e suas respectivas frequências.

O lodo utilizado como inóculo apresentou grande diversidade de microrganismos, incluindo morfologias semelhantes a BRS e AM (Figura 5.4), comprovado pelos resultados obtidos por FISH. A Figura 5.5 expressa as porcentagens relativas de células pertencentes ao Domínio *Bacteria* (EUB338), grupo BRS (SRB385) e Domínio *Archaea* (ARC915) e, as barras de erros indicam os desvios padrões.

Tabela 5. 3. Caracterização Morfológica do Inóculo por Microscopia Ótica

MORFOLOGIAS	FREQÜÊNCIA OBSEVADA
Arqueas Metanogênicas	
<i>Methanosarcina sp.</i>	++
<i>Methanosaeta sp.</i>	++++
<i>Bacilos Fluorescentes</i>	++++
Bactérias	
Bacilos com extremidades arredondadas	+
Bacilos curvos (víbrios)	+++
Bacilos delgados	++++
Bacilos ovalados	++
Cocos	+
Filamentos	++

(+++++) predominantes – (++++) freqüentes – (++) pouco freqüentes – (+) raros – (-) não observados

Figura 5.4. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica, Luz Comum e Fluorescência, no Lodo Utilizado como Inóculo. (a) Filamentos Semelhantes a *Methanosaeta sp.*; (b) Arranjo semelhante a *Methanosarcina sp.*.

Figura 5.5. Composição da Comunidade Microbiana Determinada por FISH em Amostra do Lodo Utilizado como Inóculo. (HIRASAWA, 2003).

5.1.2.2 Espuma de Poliuretano (PU)

A Tabela 5.4 apresenta as morfologias e suas respectivas frequências observadas por microscopia ótica na biomassa aderida em PU. Após 7 dias de operação houve predomínio de bacilos com extremidades arredondadas (Figura 5.6). Essas morfologias foram observadas anteriormente em reatores anaeróbios horizontais de leito fixo (RAHLF), cujo material suporte era espuma de poliuretano por TOMMASO (1999) e RIBEIRO (2001) e foram relacionadas, por esses autores, aos processos de hidrólise e fermentação.

Morfologias semelhantes às pertencentes ao grupo I de BRS, que oxidam parcialmente seus substratos orgânicos (MADIGAN *et al.* 1997), na forma de bacilos curvos e células ovóides, também foram observadas em PU após 7 dias.

Em amostras de PU examinadas após 14 dias (Figura 5.7) foi observado o aparecimento de espiroquetas, provavelmente devido à presença de H_2S , pois esses microrganismos o utilizam como fonte de enxofre para a síntese de proteínas (MADIGAN *et al.* 1997)

Tabela 5.4. Caracterização Morfológicas dos Microrganismos Aderidos em Espuma de Poliuretano

MORFOLOGIAS	FREQUÊNCIA OBSERVADA			
	7 d	14 d	21 d	28 d
Arqueas Metanogênicas				
• <i>Methanosarcina sp.</i>	++	++++	+++	+++
• <i>Methanosaeta sp.</i>	++	+	+	+++
• <i>Bacilos Fluorescentes</i>	++	+	++	++++
Bactérias				
• Bacilos com extremidades arredondadas	++++	++++	++++	++++
• Bacilos curvos (víbrios)	+++	+	+++	+++
• Bacilos delgados	++++	++++	++	+
• Bacilos ovalados	++	++	++	++
• Bacilos com grânulos	++	+++	+++	+++
• Cocos isolados	++	+	+	+
• Cocos em cadeia	++	-	+	-
• Espiroqueta	-	+	-	-
• Filamentos	+	+	+	++

(+++++) predominantes – (++++) freqüentes – (++) pouco freqüentes – (+) raros – (-) não observados

Figura 5.6. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica de Luz Comum e Fluorescência em Matrizes de PU Colonizadas Após 7 Dias de Operação. Bacilos Curtos com Extremidades Arredondadas, Bacilos com Extremidades Afiladas, Víbrios, Cocos e Bacilos Fluorescentes e Cocos Formando Arranjos Semelhantes a *Methanosarcina sp.*.

Figura 5.7. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica, Luz Comum e Fluorescência, em PU Após 14 Dias de Operação. Predomínio de Bacilos com Extremidades Arredondadas e Presença de Bacilos Fluorescentes.

Foi observada abundância de *Methanosaeta sp.* nas amostras de PU, examinadas após 21 e 28 dias de operação dos reatores (Figuras 5.8 e 5.9). A presença de acetato produzido pelas BRS oxidadoras incompletas de substratos orgânicos pode ter favorecido o crescimento de *Methanosaeta sp.*, além das propriedades da espuma de poliuretano utilizada como material suporte. PIKANÇO *et al.* (2000), observaram que esses microrganismos aderiram facilmente em espuma de poliuretano. A Figura 5.10 apresenta as morfologias observadas por microscopia eletrônica em amostras de PU colonizadas após 7, 14, 21 e 28 dias.

Figura 5.8. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica, Luz Comum e Fluorescência, em Matrizes de PU Após 21 Dias de Operação do Reator. Filamentos Semelhantes a *Methanosaeta sp.*, Bacilos com Extremidades Arredondadas, Víbrios e Bacilos Fluorescentes.

Figura 5.9. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica, Contraste de Fase e Fluorescência, em Matrizes de PU Após 28 Dias de Operação do Reator.

Filamentos Semelhantes a *Methanosaeta sp.*, Bacilos com Extremidades Arredondadas e Cocos Formando Arranjos Semelhantes a *Methanosarcina sp.*.

Figura 5.10. Morfologias Observadas em PU. Após 7, 14, 21 e 28 Dias de Operação dos Reatores. Predomínio de Bacilos Curtos, com Extremidades Arredondadas, Presença de Víbrios e Cocos Formando Arranjos Semelhantes a *Methanosarcina.sp.* e Filamentos Semelhantes a *Methanosaeta sp.*.

A baixa eficiência em redução de sulfato observada no início do experimento, associada com a presença de BRS, indica a possibilidade desses microrganismos ter desempenhado processo fermentativo ao invés de respiração anaeróbia. Todavia, esse

fenômeno deve ser melhor estudado para a compreensão e domínio do processo sulfetogênico.

5.1.2.3 Carvão Vegetal (CV)

A Tabela 5.5 apresenta as morfologias e suas respectivas frequências, observadas por microscopia ótica na biomassa aderida em CV. Após 7 dias observou-se a presença de morfologias microbianas relacionadas aos processos de hidrólise e fermentação anaeróbia (Figura 4.11) e após 14 dias, predomínio de células ovóides e cocos em cadeia (Figuras 4.12 a 4.14). A Figura 4.15 apresenta as morfologias aderidas em CV, observadas por MEV.

Figura 5.11. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica, Luz Comum e Fluorescência, em Matrizes de CV Após 7 Dias de Operação do Reator. Filamentos Semelhantes a *Methanosaeta sp.*, Bacilos com Extremidades Arredondadas, Células Ovóides, Bacilos Fluorescentes e Arranjos Semelhantes a *Methanosarcina sp.*.

Tabela 5.5. Caracterização Morfológica dos Microrganismos Aderidos em CV

MORFOLOGIAS	FREQUÊNCIA OBSERVADA			
	7 d	14 d	21 d	28 d
Arqueas Metanogênicas				
• <i>Methanosarcina sp.</i>	+	++	++++	+++
• <i>Methanosaeta sp.</i>	+	+	+	+
• <i>Bacilos Fluorescentes</i>	+	++	+	++
Bactérias				
• Bacilos com extremidades arredondadas	++++	+++	++++	++++
• Bacilos curvos (víbrios)	+	+	+	+
• Bacilos delgados	++	++	++	++
• Bacilos ovalados	+++	++++	+++	+++
• Bacilos com grânulos	+++	+	++	+
• Cocos isolados	+	++	+	+
• Cocos em cadeia	+	-	-	-
• Filamentos	+	+	++	++

(++++) predominantes – (++) freqüentes – (++) pouco freqüentes – (+) raros – (-) não observados

Figura 5.12. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica, Luz Comum e Fluorescência, em Matrizes de CV Após 14 Dias de Operação do Reator. Bacilos com Extremidades Arredondadas, Células Ovóides, Arranjos Semelhantes a *Methanosarcina sp.*.

Figura 5.13. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica Utilizando Luz Comum e com Fluorescência em Matrizes de CV Colonizadas Após 21 Dias de Operação (Arranjos Semelhantes a *Methanosarcina sp.*, Bacilos Com Extremidades Arredondadas, Bacilos com Extremidades Afiladas, Células Ovóides.

Figura 5.14. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica, Utilizando Luz Comum e Fluorescência, em Matrizes de CV Após 28 Dias de Operação do Reator. Arranjos Semelhantes a *Methanosarcina sp.*, Bacilos com Extremidades Arredondadas, Bacilos com Extremidades Afiladas, Células Ovóides, Filamentos Semelhantes a *Methanosaeta sp.* e Bacilos Fluorescentes.

Figura 5.15. Morfologias Observadas por Microscopia Eletrônica de Varredura em Amostras de CV Após 7, 14, 21 e 28 Dias de Operação dos Reatores. Predomínio de Bacilos com Extremidades Arredondadas e Células Ovóides e, Presença de Cocos Formando Cadeias e Víbrios.

A predominância de células ovóides, semelhantes a *Desulfobulbus propionicus* sp., indica que esses microrganismos têm alta afinidade em aderir na superfície de CV, pois, as condições de inoculação e alimentação foram idênticas para todos os suportes.

5.1.2.4 Polietileno de Baixa Densidade Reciclado (PE)

A Tabela 5.6 apresenta as morfologias e suas respectivas frequências, observadas por microscopia ótica na biomassa aderida em PE. Após 28 dias observou-se a presença de morfologias semelhantes a *Methanosarcina* sp. (Figuras 5.16 a 5.19). Entretanto, morfologias semelhantes a BRS foram pouco frequentes. A Figura 5.20 apresenta as morfologias aderidas em PE, observadas por MEV.

Tabela 5.6. Caracterização Morfológica dos Microrganismos Aderidos em Polietileno de Baixa Densidade (Reciclado)

MORFOLOGIAS	FREQÜÊNCIA OBSERVADA			
	7 d	14 d	21 d	28 d
Arqueas Metanogênicas				
• <i>Methanosarcina sp.</i>	++	+++	+++	++
• <i>Methanosaeta sp.</i>	+	+	++	++
• <i>Bacilos Fluorescentes</i>	++	++	+	+
Bactérias				
• Bacilos com extremidades arredondadas	+++	+++	+++	+++
• Bacilos curvos (víbrios)	++	+	++	++
• Bacilos delgados	++++	++++	++++	+++
• Bacilos ovalados	+++	++	++	++
• Bacilos com grânulos	+	+	+	+
• Cocos isolados	++	++	+	+
• Cocos em cadeia	+	-	-	-
• Filamentos	-	+	+	+

(+++++) predominantes – (++++) freqüentes – (++) pouco freqüentes – (+) raros – (-) não observados

Figura 5.16. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica Utilizando Luz Comum e Fluorescência, em Matrizes de PE, Após 7 Dias de Operação do Reator. Filamentos Semelhantes a *Methanosaeta sp.*, Bacilos Fluorescentes, Víbrios, Bacilos Curtos com Extremidades Arredondadas e Células Ovóides.

Figura 5.17. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica, Utilizando Luz Comum e Fluorescência, em Matrizes de PE Após 14 Dias de Operação do Reator. Arranjos Semelhantes a *Methanosarcina sp.*.

Figura 5.18. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica, Utilizando Luz Comum e Fluorescência, em Matrizes de PE Após 21 Dias de Operação do Reator. Arranjos Semelhantes a *Methanosarcina sp.*, Filamentos Semelhantes a *Methanosaeta sp.*, Bacilos com Extremidades Arredondadas e Diplococos.

Figura 5.19. Morfologias Observadas por Meio de Microscopia Ótica, Utilizando Luz Comum e Fluorescência, em Matrizes de PE Após 28 Dias de Operação do Reator. Arranjos Semelhantes a *Methanosarcina sp.*, Filamentos Semelhantes a *Methanosaeta sp.*, Bacilos com Extremidades Arredondadas, Vibrios, e Células Ovóides.

Figura 5.20. Morfologias Observadas em Matrizes de Polietileno de Baixa Densidade Após 7, 14, 21 e 28 Dias de Operação do Reator. Predomínio de Morfologias Semelhantes a *Metanosarcina sp.* e Presença de Bacilos com Extremidades Arredondadas, e Células Ovóides.

4.1.2.5. Cerâmica (CE)

A Tabela 5.7 apresenta as morfologias e suas respectivas frequências observadas por microscopia ótica na biomassa aderida em CE (Figuras 5.21 a 5.24).

A Figura 5.25 apresenta as morfologias aderidas em CE observadas por MEV. Foram observadas morfologias semelhantes a BRS, como, por exemplo, bacilos semelhantes a *Desulfobacter sp.*, que oxidam completamente acetato a CO₂ (MADIGAN *et al.*, 1997), víbrios, cocos em cadeia, e morfologias semelhantes a *Methanosaeta sp.*. Entretanto, a quantidade de microrganismos aderidos em CE foi menor que em PU e CV.

Tabela 5.7. Caracterização Morfológica dos Microrganismos Aderidos em Cerâmica Porosa Confeccionada com Alumina

MORFOLOGIAS	FREQUÊNCIA OBSERVADA			
	7 d	14 d	21 d	28 d
Arqueas Metanogênicas				
• <i>Methanosarcina sp.</i>	+	+	+	++
• <i>Methanosaeta sp.</i>	+	+	+	++
• <i>Bacilos Fluorescentes</i>	++	++	++	++
Bactérias				
• Bacilos com extremidades arredondadas	+++	++	++	++
• Bacilos curvos (víbrios)	++	++	++	++
• Bacilos delgados	++	+++	+++	+++
• Bacilos ovalados	++	++	+	++
• Bacilos com grânulos	++	+++	++	++
• Cocos isolados	+	++	+	+
• Cocos em cadeia	-	+	+	-
• Espiroqueta	+	-	-	-
• Filamentos	+	+	+	+
(+++++) predominantes – (++++) freqüentes – (++) pouco freqüentes – (+) raros – (-) não observados

Figura 5.21. Morfologias Observadas por Microscopia Ótica, Utilizando Luz Comum e Fluorescência, em Matrizes de CE Após 7 Dias de Operação. Arranjos Semelhantes a *Methanosarcina sp.*, Filamentos Semelhantes a *Methanosaeta sp.* e Bacilos Fluorescentes.

Figura 5.22. Morfologias Observadas por Microscopia Ótica, Contraste de Fase e Fluorescência, em Matrizes de CE Após 14 Dias de Operação. Arranjos Semelhantes a *Methanosarcina sp.*, Filamentos Semelhantes a *Methanosaeta sp.*, Bacilos Fluorescentes, Víbrios, Bacilos Curtos com Extremidades Arredondadas, Células Ovóides e Bacilos em Cadeia.

Figura 5.23. Morfologias Observadas por Microscopia Ótica, Utilizando Luz Comum e Fluorescência, em Matrizes de CE Após 21 Dias de Operação do Reator. Arranjos Semelhantes a *Methanosarcina sp.*, Bacilos Fluorescentes, Víbrios, Bacilos Curtos com Extremidades Arredondadas e Células Ovóides.

Figura 5.24. Morfologias Observadas por Microscopia Ótica, Utilizando Luz Comum e Fluorescência, em Matrizes de CE Após 28 Dias de Operação do Reator. Arranjos Semelhantes a *Methanosarcina sp.*, Filamentos Semelhantes a *Methanosaeta sp.*, Bacilos Fluorescentes, Víbrios, Bacilos Curtos com Extremidades Arredondadas e Células Ovóides.

Figura 5.25. Morfologias Observadas em CE, Após 7, 14, 21 e 28 Dias de Operação do Reator: Predomínio de Bacilos com Extremidades Arredondadas, Presença de Víbrios, Células Ovóides e *Methanosaeta Sp.*

4.1.2.5. Resultados Obtidos por FISH (Quantificação de Grupos Microbianos)

A análise por FISH revelou que houve predomínio do Domínio *Bacteria* nos quatro MS estudados (Figura 5.26). O total de células bacterianas detectadas com a sonda EUB338 foram quantificadas em 76,2% ($\pm 1,6\%$), 79,7% ($\pm 1,3\%$), 84,4% ($\pm 1,4\%$) e 60,2% ($\pm 1,0\%$), em PU, CV, PE e CE, respectivamente, do total de células coradas com DAPI. A concentração média de células detectadas com a sonda ARC915 foi igual a 33,1% ($\pm 1,6\%$), 25,4% ($\pm 1,3\%$), 22,6% ($\pm 1,1\%$) e 41,9% ($\pm 1,0\%$), em PU, CV, PE e CE, respectivamente, do total de células coradas com DAPI.

A concentração média de células detectadas com a sonda SRB385 foi 44,8% ($\pm 2,1\%$), 55,4% ($\pm 1,2\%$), 32,7% ($\pm 1,4\%$) e 18,1% ($\pm 1,1\%$), em PU, CV, PE e CE, respectivamente, do total de células coradas com DAPI.

Figura 5.26. Composição da Comunidade Microbiana, Determinada por Meio de FISH em Amostras de Matrizes Colonizadas nos Reatores Após: 7, 14, 21 E 28 Dias de Operação com (A) PU, (B) CV, (C) PE e (D) CE. Porcentagens Relativas de Células Pertencentes aos Domínios: *Bacteria* (EUB338), BRS (SRB385) e *Arqueas* (ARC915). As Barras de Erros Indicam os Erros-Padrão (HIRASAWA, 2003).

5.1.3 Resultados da Análise das Superfícies dos Materiais suporte e Biomassa – Medição do Ângulo de Contato com Água

A análise do grau de hidrofobicidade da superfície da biomassa retida em membrana de 1,2 μm e dos MS estudados foi baseada na consideração prática de que valores de ângulo de contato (θ) inferiores a 90° caracterizam superfícies hidrofílicas e, valores superiores, superfícies hidrofóbicas (ADAMSON, 1990).

Os valores médios de θ para as superfícies da biomassa, CV, PU e PE foram $19 \pm 3^\circ$, $101 \pm 9^\circ$, $89 \pm 10^\circ$ e $86 \pm 7^\circ$, respectivamente. Não foi possível seguir esse procedimento para avaliar a superfície de CE, porque a alta porosidade desse material impossibilitou a fixação da bolha de água. A partir deste conceito, a superfície da biomassa retida em membrana de 1,2 μm foi hidrofílica enquanto que as superfícies dos materiais suporte avaliados foram hidrofóbicas. O valor de ângulo

de contato médio, medido sobre a superfície de PE, foi igual ao valor relatado por ADAMSON (1990).

VERRIER *et al.* (1987) utilizaram essa técnica para caracterizar as superfícies de materiais poliméricos, inclusive polietileno, sobre o qual os autores observaram ângulo de contato similar ao observado neste trabalho (90°) e concluíram que a adesão de AM em suportes inertes é influenciada pela superfície das células e pelas características do material suporte.

Nesse trabalho, as matrizes de CV apresentaram maior grau de hidrofobicidade, seguidas pelas matrizes de PU e de PE. Essa característica pode ser somente correlacionada com as BRS aderidas em cada tipo de material suporte, pois foi verificado que as BRS aderiram principalmente em CV (55%), seguida por PU (45%) e PE (33%). Contudo, não se pode concluir que o grau de hidrofobicidade foi o único fator que afetou a adesão de BRS, uma vez que os materiais foram de diferentes características como porosidade e tamanho de poros.

5.1.4 Considerações gerais

Essa etapa do trabalho, demonstrou: (i) a importância da escolha de materiais suporte para serem utilizados em reatores anaeróbios contendo biomassa imobilizada; (ii) as diferenças entre os MS conduzem a diferentes equilíbrios microbianos, o que afeta diretamente o desempenho e a estabilidade do reator; (iii) a seleção de biomassa é, provavelmente, relacionada a características intrínsecas dos materiais, como, por exemplo, carga líquida, grau de hidrofobicidade, porosidade e rugosidade; (iv) os resultados obtidos por FISH revelaram que PU e CV apresentaram melhor aderência de BRS, enquanto PE foi colonizado, principalmente, por microrganismos pertencentes ao grupo de bactérias não redutoras de sulfato e CE apresentou um microambiente rico em microrganismos metanogênicos.

Os resultados obtidos por FISH indicaram que cada material pode ser selecionado dependendo da aplicação e das características da água residuária a ser tratada. Por exemplo, aqui foi demonstrado que CV e PU devem ser utilizados em sistemas que visam o processo de redução de sulfato, enquanto que CE pode ser usado para aumentar a produção de metano ou prevenir a geração de H_2S em sistemas de tratamento anaeróbio de águas residuárias. PE pode ser utilizado, principalmente, em reatores acidogênicos em sistemas de duas fases.

Portanto, é conveniente, antes de se projetar reatores contendo células imobilizadas, que vários MS disponíveis, sejam testados utilizando-se de uma metodologia simples, como aqui apresentado, para evitar a construção de sistemas instáveis. Foi claramente demonstrado que, o sucesso ou falha de um reator anaeróbio, para uma aplicação específica, podem ser diretamente relacionados com o MS utilizado para a formação do biofilme.

Com base nesses ensaios de adesão, CV e PU foram escolhidos como suporte de imobilização nos reatores operados em bateladas seqüenciais.

5.2 Ensaios Hidrodinâmicos nos Reatores Operados em Bateladas Seqüenciais

O estudo hidrodinâmico dos ASBBR's utilizados foi realizado com a finalidade de se determinar o tempo de mistura nesses reatores. O conhecimento do tempo de mistura foi importante para verificar se os reatores operaram em regime de mistura completa. Essa comprovação foi considerada essencial neste trabalho, porque, as amostragens para determinação das principais variáveis, para avaliação temporal do processo de biodessulfatação foram pontuais e, dessa forma, os resultados são representativos somente para regime de mistura completa.

Os valores de pH obtidos antes e após o pulso do traçador foram plotados em função do tempo. A análise do gráfico revelou um comportamento sigmoidal, para o decaimento do pH nos reatores agitados mecanicamente, e em diferentes velocidades: 90, 180, 300, 500 e 800 rpm.

Desse modo, o modelo sigmoidal, tipo Boltzman foi o que melhor se ajustou aos dados experimentais normalizados, conforme a Equação 5.1.

$$y = \frac{pH_f - pH}{pH_f - pH_o} = \frac{y_i - y_f}{1 + e^{(t-t_o)/\tau}} + y_f \quad (5.1)$$

Na expressão (5.1), y é o valor normalizado do pH, pH_f é o pH final, atingido após a estabilização da resposta ao pulso, pH_o é o pH inicial da água no reator, antes do pulso, y_i é o valor de y quando pH igual a pH_o (igual a 1), y_f é o valor de y quando pH igual a pH_f (igual a 0), t_o é tempo correspondente ao centro da sigmóide e τ é a constante de tempo.

Nas Figuras 5.27 a 5.36 são apresentadas as curvas, já normalizadas, obtidas após estímulo com solução de ácido sulfúrico ~1M. Admitindo-se que, o tempo de mistura (t_M) significa o tempo para se atingir 99,9% da resposta final, ou seja, quando $(pH_f - pH)$ for igual a $[0,001(pH_f - pH_o)]$, t_M , pode ser calculado pela resolução das equações 5.2 a 5.6.

$$y = \frac{1-0}{1+e^{(t-t_0)/\tau}} + 0 \quad (5.2)$$

$$0,001 = \frac{1}{1+e^{(t_M-t_0)/\tau}} \quad (5.3)$$

$$\ln 0,001 = \ln \frac{1}{1+e^{(t_M-t_0)/\tau}} = \ln 1 - \ln 1 - \ln e^{(t_M-t_0)/\tau} \quad (5.4)$$

$$-6,91 = \frac{-t_M + t_0}{\tau} \quad (5.5)$$

$$t_M = 6,91.\tau + t_o \quad (5.6)$$

Figura 5.27. Ajuste Médio do Modelo de Boltzmann aos Valores Normalizados dos Dados Experimentais, Obtidos no Perfil Hidrodinâmico do Reator Preenchido com CV Sob Frequência de Agitação de 90 rpm.

Figura 5.28. Ajuste Médio d Modelo de Boltzmann aos Valores Normalizados dos Dados Experimentais, Obtidos no Perfil Hidrodinâmico do Reator Preenchido com CV Sob Frequência de Agitação de 180 rpm.

Figura 5.29. Ajuste Médio do Modelo de Boltzmann aos Valores Normalizados dos Dados Experimentais Obtidos no Perfil Hidrodinâmico do Reator Preenchido com CV Sob Frequência de Agitação de 300 rpm.

Figura 5.30. Ajuste Médio do Modelo de Boltzmann aos Valores Normalizados dos Dados Experimentais, Obtidos no Perfil Hidrodinâmico do Reator Preenchido com CV Sob Frequência de Agitação de 500 Rpm.

Figura 5.31. Ajuste Médio do Modelo de Boltzmann aos Valores Normalizados dos Dados Experimentais, Obtidos no Perfil Hidrodinâmico do Reator Preenchido com CV Sob Frequência de Agitação de 800 rpm.

Figura 5.32. Ajuste Médio Do Modelo de Boltzmann aos Valores Normalizados dos Dados Experimentais, Obtidos no Perfil Hidrodinâmico do Reator Preenchido com PU Sob Frequência de Agitação de 90 rpm.

Figura 5.33. Ajuste Médio do Modelo de Boltzmann aos Valores Normalizados dos Dados Experimentais, Obtidos no Perfil Hidrodinâmico do Reator Preenchido com PU Sob Frequência de Agitação de 180 rpm.

Figura 5.34. Ajuste Médio do Modelo de Boltzmann aos Valores Normalizados dos Dados Experimentais, Obtidos no Perfil Hidrodinâmico do Reator Preenchido com PU Sob Frequência de Agitação de 300 rpm.

Figura 5. 35. Ajuste Médio do Modelo de Boltzmann aos Valores Normalizados dos Dados Experimentais, Obtidos no Perfil Hidrodinâmico do Reator Preenchido com PU Sob Frequência de Agitação de 500 rpm.

Figura 5.36. Ajuste Médio do Modelo de Boltzmann aos Valores Normalizados dos Dados Experimentais, Obtidos no Perfil Hidrodinâmico do Reator Preenchido com PU Sob Frequência de Agitação de 800 rpm.

As Tabelas 5.8 e 5.9 apresentam os valores de tempo de mistura (t_M), calculados para cada frequência de agitação aplicada, nos reatores com CV e PU, respectivamente, e a Figura 5.37 apresenta o perfil dos t_M com a variação na frequência de agitação.

Tabela 5.8. Valores da Constante de Tempo (τ), do Centro da Sigmóide (t_0) e do Tempo de Mistura (t_m), Calculados pelo Modelo de Boltzmann, para as Velocidades de Agitação Aplicadas ao Reator Contendo CV.

Tempo de mistura do reator com carvão			
Agitação (rpm)	τ (s)	t_0 (s)	t_M (s)
90	56	152	539
180	8	83	138
300	5	52	87
500	2	19	33
800	3	14	35

Tabela 5.9. Valores da Constante de Tempo (τ), do Centro da Sigmóide (t_0) e do Tempo de Mistura (t_m), Calculados pelo Modelo de Boltzmann, para as Velocidades de Agitação Aplicadas ao Reator Contendo PU.

Tempo de mistura do reator com espuma			
Agitação (rpm)	τ (s)	t_0 (s)	t_M (s)
90	15	91	195
180	5	49	84
300	8	52	107
500	6	43	84
800	3	23	44

Figura 5.37. Tempo de Mistura em Função da Frequência de Agitação.

Os resultados obtidos para o reator com carvão (RC) mostram que até 500 rpm o tempo de mistura diminuiu com o aumento da frequência de agitação, mas, os valores obtidos: 36 s para 800 rpm a 540 s (9 min) para 90 rpm, foram insignificantes em relação ao tempo de ciclo de 24 horas. No reator com PU (RE) o tempo de mistura foi diminuindo com o aumento da frequência de agitação até 800 rpm. Todavia, os valores de t_m , obtidos entre 36 s e 180 s também foram insignificantes em relação ao tempo de ciclo de 24 horas. Portanto, os dois reatores apresentaram comportamento hidrodinâmico próximo à mistura completa. Considerando os resultados obtidos nos ensaios de hidrodinâmica e a influência da velocidade de agitação no desempenho de ASBBR observada por Cubas *et al.* (2004) optou-se pela

aplicação da frequência de agitação de 300 rpm para a operação dos reatores sulfetogênicos.

5.3 Desempenho do Reator com Espuma de Poliuretano (RE) no Tratamento de Meio Sintético com Relações DQO/[SO₄²⁻] iguais a 3,2, 1,3 e 0,4.

5.3.1 Alimentação com Relação DQO/[SO₄²⁻] Igual a 3,2

A Figura 5.38 apresenta as variações das eficiências em remoção de sulfato e de DQO no reator RE durante os ciclos tratando meio sintético com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 3,2.

Nessa condição, o reator RE apresentou estabilidade em redução de sulfato a partir do 61º ciclo, com eficiência média de 94±4%. A eficiência média em remoção de DQO foi 67±9% a partir do 61º ciclo. Os valores das variáveis pH, AT, AB e ATV medidos no efluente desse reator, foram: 7,3±0,2, 659±75 mg.L⁻¹, 564±104 mg.L⁻¹ e 146±28 mg.L⁻¹, respectivamente. Observou-se que a variação na DQO remanescente foi proporcional a variação da concentração de ATV, como mostra a Figura 5.39.

O acúmulo de ATV foi, provavelmente, devido a inibição de BRS e AM acetoclásticas pelo sulfeto produzido. Entre os 42º e 68º ciclos, a [ST] média foi 47±19 mg.L⁻¹ e o pH foi 7,0±0,3. Dessa forma, as concentrações de sulfeto de hidrogênio como H₂S e HS⁻, calculadas pela equação 5.7 foram 19±11 mg.L⁻¹ e 28±14 mg.L⁻¹, respectivamente.

$$pH - pk_1 = \log \frac{[HS^-]}{[H_2S]} \quad (5.7)$$

A equação 5.7 foi deduzida a partir da lei do equilíbrio químico para o H₂S, representada na equação 5.8. O valor da constante de equilíbrio (k₁), a 30°C, utilizado nesse cálculo foi 13,05x10⁻⁸ (adaptado de LAWRENCE E MCCARTY, 1966) e pk₁ corresponde ao antilogaritmo, na base 10, de k₁.

$$k_1 = \frac{[HS^-][H^+]}{[H_2S]} \quad (5.8)$$

Figura 5.38. Eficiências de Remoção de Sulfato e DQO no Reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2.

Figura 5.39. DQO e Concentrações de Ácidos Totais Voláteis no Efluente do Reator Contendo Espuma de Poliuretano, Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2.

De acordo com LANGE (1978), a constante de solubilidade do H_2S a $30^\circ C$ é $2980 \text{ mg.L}^{-1}.\text{atm}^{-1}$. Utilizando-se a lei de Henry ($C = H' \times p$) onde: C é a concentração do gás em mg.L^{-1} , p é a pressão parcial do gás em atm, e H' é uma

constante que expressa a solubilidade do gás em $\text{mg.L}^{-1}.\text{atm}^{-1}$, concluiu-se que o $\text{H}_2\text{S}_{(\text{g})}$ produzido foi, praticamente, dissolvido no líquido.

MAILACHERUVU *et al.* (1996) observaram que, dos microrganismos constituintes do consórcio microbiano anaeróbico, as BRS acetoclásticas foram os mais sensíveis à presença de sulfeto, seguidos pelos fermentadores de ácido propiônico e arqueas metanogênicas acetoclásticas. Segundo esses autores, as BRS são inibidas por altas concentrações de sulfeto total dissolvido e arqueas metanogênicas por altas concentrações de H_2S . Com base nessas observações sugere-se a operação de reatores biológicos, com a finalidade de remoção de sulfato, com pH abaixo de 7,0 ou mantendo-se a fração de sulfeto total dissolvido abaixo de 50%. Isso faz com que sulfeto de hidrogênio seja naturalmente removido por “stripping”, mantendo as concentrações de sulfeto total dissolvido em baixos níveis no sistema.

A [ST] média, representada pela soma do sulfeto dissolvido (HS^-) e H_2S no efluente, correspondeu a 45% da quantidade que deveria ser, teoricamente, observada em função da quantidade de sulfato reduzida (272 mg.L^{-1}). A maior parte de sulfeto não quantificada foi oxidada à enxofre elementar. Esse fato pôde ser observado pela deposição de enxofre na parte superior do cesto que continha o material suporte e na tampa do reator, sendo posteriormente comprovado, analiticamente, por fluorescência de raios X com energia dispersiva (EDXRF). A oxidação parcial do sulfeto ocorreu devido à entrada de ar durante as operações de descarga do reator em cada batelada ou por ação microbiana. A quantidade de enxofre na forma de sulfeto utilizada na biossíntese de sistemas anaeróbios pode ser desprezível, considerando a baixa produção de biomassa nesses sistemas. Outra parte do sulfeto foi liberada na forma gasosa, porém, a concentração de H_2S e o volume do biogás produzido foram baixos, ou seja, $<1 \text{ ppm}$ e 480 mL . Além de sulfeto de hidrogênio, detectou-se metano em baixa concentração (11 mg.L^{-1}). Esse resultado indica que a sulfetogênese foi o processo predominante no reator RE durante o tratamento de água residuária sintética com relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ igual a 3,2.

5.3.2 Alimentação com Relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ Igual a 1,3.

A Figura 5.40 apresenta as eficiências em remoção de sulfato e de DQO observadas ao longo dos ciclos operacionais, realizados no reator RE tratando meio sintético com relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ igual a 1,3. Nessa condição, o reator apresentou

estabilidade em redução de sulfato a partir do 57º ciclo, com eficiência média de $96\pm 3\%$. A eficiência média em remoção de DQO a partir do 57º ciclo foi $61\pm 9\%$. Os valores das variáveis pH, AT, AB e ATV, medidos no efluente do reator foram: $7,0\pm 0,2$, 912 mg.L^{-1} , $827\pm 60\text{ mg.L}^{-1}$ e $120\pm 85\text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente.

A [ST] média foi $82\pm 41\text{ mg.L}^{-1}$. De acordo com a equação 5.7, as concentrações de H_2S e HS^- foram: $43\pm 21\text{ mg.L}^{-1}$ e $40\pm 23\text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente.

Como ocorreu no tratamento de meio sintético com relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ igual a 3,2, mais de 50% da quantidade de sulfeto, teoricamente produzida, não foi quantificada no efluente, provavelmente devido à oxidação parcial do sulfeto a enxofre elementar. Não foi detectado metano em amostras do biogás sugerindo que o reator tornou-se completamente sulfetogênico.

Figura 5.40. Eficiências de Remoção de Sulfato e de DQO no Reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com Relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ igual a 1,3.

5.3.3 Alimentação com Relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ Igual a 0,4.

A Figura 5.41 apresenta as eficiências em remoção de sulfato e de DQO do reator RE tratando meio sintético com relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ igual a 0,4. Nessa condição, a estabilidade em redução de sulfato foi observada a partir do 38º ciclo, com eficiência média de $31\pm 6\%$. A eficiência média em remoção de DQO a partir do 38º ciclo foi $62\pm 14\%$. Os valores das variáveis pH, AT, AB e ATV, medidos no

efluente foram: $7,8 \pm 0,4$, 838 ± 97 mg.L⁻¹, 788 ± 129 mg.L⁻¹ e 69 ± 61 mg.L⁻¹, respectivamente.

Figura 5.41. Eficiências de Remoção de Sulfato e de DQO no Reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com Relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 0,4.

Nessa etapa do experimento, [ST] média no efluente do reator foi 120 ± 15 mg.L⁻¹ e as concentrações de HS⁻ e H₂S foram 105 ± 13 mg.L⁻¹ e 15 ± 5 mg.L⁻¹, respectivamente. A [ST] detectada no efluente do reator RE, nessa condição, correspondeu a 52% da concentração teoricamente produzida, considerando a concentração de sulfato reduzida. Praticamente metade do sulfeto gerado foi, provavelmente, oxidado a enxofre elementar devido a entrada de ar no reator durante a descarga de efluente tratado ou por atividade microbiana. Nessa etapa do experimento não foi detectado metano em amostras do biogás indicando que o reator estava completamente sulfetogênico.

5.3.4 Considerações Gerais sobre o Estudo do Processo de Biodessulfatação em ASBBR Utilizando Espuma de Poliuretano como Material Suporte

A Tabela 5.10 apresenta os valores médios das variáveis monitoradas no efluente do reator RE tratando meio sintético com relações DQO/[SO₄²⁻] iguais a 3,2, 1,3 e 0,4.

A concentração média de ATV no efluente do reator RE quando este foi alimentado com meio sintético com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 0,4 foi, significativamente, menor do que as concentrações observadas durante o tratamento de meio sintético com relações DQO/[SO₄²⁻] iguais a 1,3 e 3,2. Salienta-se que as porcentagens de sulfeto de hidrogênio, como H₂S, no efluente do reator RE quando este tratou meio sintético com relações DQO/[SO₄²⁻] de 3,2 e 1,3 foram 41±15% e 54±10%, respectivamente, do valor de [ST] em condição de estabilidade em remoção de sulfato. Quando a relação DQO/[SO₄²⁻] do meio sintético foi diminuída para 0,4 observou-se que a porcentagem de H₂S dissolvido no efluente desse reator diminuiu para 13±4%. Esse fato pode ter favorecido o consumo de Hac por microrganismos acetoclásticos.

Tabela 5.10. Valores Médios das Variáveis Monitoradas no Efluente do Reator Contendo Espuma de Poliuretano como Material Suporte.

Variáveis	Relação DQO/[SO ₄ ²⁻]		
	3,2	1,3	0,4
pH	7,3±0,2	7,0±0,2	7,8±0,4
Alcalinidade Total (mg.L ⁻¹)	659±75	912±0	838±97
Alcalinidade a Bicarbonato (mg.L ⁻¹)	564±104	827±60	788±129
Ácidos Totais Voláteis (mg.L ⁻¹)	146±28	120±85	40±20
Sulfato (mg.L ⁻¹)	18±11	29±17	1581±209
Sulfeto Total (mg.L ⁻¹)	40±15	82±41	120±14
DQO (mg.L ⁻¹)	303±84	389±81	390±125
Remoção de DQO (%)	67±9	61±9	62±15
Remoção de Sulfato (%)	94±4	96±3	31±6

5.4 Desempenho do Reator com Carvão Vegetal (RC) no Tratamento de Meio Sintético com Relações $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ Iguais a 3,2, 1,3 e 0,4.

5.4.1 Alimentação com Relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ Igual a 3,2

A Figura 5.42 apresenta a variação das eficiências em remoção de sulfato e de DQO ao longo dos ciclos realizados no reator RC tratando meio sintético com relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ igual a 3,2.

Figura 5.42. Eficiências em Remoção de Sulfato e de DQO no Reator com Carvão Vegetal Tratando Meio Sintético com Relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ igual a 3,2.

Nessa condição, o reator RC apresentou estabilidade em redução de sulfato a partir do 63º ciclo, com eficiência média de $98 \pm 1\%$. A eficiência média em remoção de DQO foi de $81 \pm 8\%$. Os valores das variáveis pH, AT, AB e ATV, no efluente, foram: $7,2 \pm 0,2$, $779 \pm 99 \text{ mg.L}^{-1}$, $746 \pm 94 \text{ mg.L}^{-1}$ e $47 \pm 19 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente. Observou-se que a variação na DQO remanescente foi proporcional a variação de ATV (Figura 5.42).

Figura 5.43. Valores de DQO e Concentração de Ácidos Totais Voláteis em Função dos Ciclos Operacionais do Reator RC Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2.

As baixas concentrações de ATV observadas no efluente do reator RC podem ser devidas a: (i) a matéria orgânica pode ter sido, preferencialmente, degradada pela via não acetogênica pelas BRS e BA - (ii) microrganismos acetoclásticos consumiram Hac excretado pelas BRS e BA. Esses resultados indicam que não houve toxicidade pelo sulfeto, ainda que a $[ST]$ média nessa condição de alimentação ($44 \pm 16 \text{ mg.L}^{-1}$) tenha sido igual à observada no reator RE, o qual acumulou Hac. As concentrações de sulfeto de hidrogênio como H_2S e HS^- foram: $26 \pm 7 \text{ mg.L}^{-1}$ (59% $[ST]$) e $18 \pm 10 \text{ mg.L}^{-1}$ (41% $[ST]$), respectivamente.

O volume médio diário e a concentração média de metano do biogás produzido, em três ciclos distintos foram 260 mL e 110 mg.L^{-1} , respectivamente, ou seja, dez vezes superior à concentração detectada no biogás do reator RE. Uma explicação para essa constatação é o possível aprisionamento de gás nos poros da espuma de poliuretano possibilitando a utilização de metano como doador de elétrons nas reações bioquímicas ocorrendo nesse reator. No carvão esse fenômeno pode não ter ocorrido ou foi menos intenso devido, por exemplo, a sua porosidade e diâmetro médio dos poros, serem menores do que em PU. A porosidade e diâmetro médio dos poros em PU foram $0,92 \text{ }\mu\text{m}$ e $543 \text{ }\mu\text{m}$ e em CV $0,43$ e $1,9 \text{ }\mu\text{m}$, respectivamente.

5.4.2 Alimentação com Relação DQO/[SO₄²⁻] Igual a 1,3

A Figura 5.44 apresenta a variação das eficiências em remoção de sulfato e de DQO ao longo dos ciclos realizados no reator RC tratando meio sintético com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 1,3.

Figura 5.44. Eficiências em Remoção de Sulfato e de DQO no Reator com Carvão Vegetal Tratando Meio Sintético com Relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 1,3.

Nessa condição o reator RC apresentou estabilidade em redução de sulfato a partir do 36º ciclo com eficiência média de 96±2%. A partir desse ciclo, a eficiência média em remoção de DQO a partir do 36º ciclo foi de 56±5%. Os valores das variáveis pH, AT, AB e ATV, no efluente foram: 7,0±0,1, 907±81 mg.L⁻¹, 760±103 mg.L⁻¹ e 119±26 mg.L⁻¹, respectivamente.

Nessa condição a concentração de ATV foi maior do que a observada no efluente do reator RC tratando meio sintético com relação DQO/[SO₄²⁻] de 3,2. É possível que substratos orgânicos tenham sido oxidados parcialmente por BRS e o Hac foi acumulando, provavelmente devido à inibição dos microrganismos acetoclásticos, em decorrência da presença de sulfeto. A [ST] foi igual a 99±39 mg.L⁻¹, sendo que 51% do sulfeto de hidrogênio era como H₂S.

Não foi detectado metano em amostras de biogás. Isso indica que CH₄ pode ter sido utilizado pelas BRS como doador de elétrons, conforme a equação 4.9, ou

não ter sido produzido devido à inibição das AM. Nesse caso, o reator tornou-se completamente sulfetotogênico.

5.4.3 Alimentação com Relação DQO/[SO₄²⁻] Igual a 0,4

A Figura 5.45 apresenta a variação das eficiências em remoção de sulfato e DQO ao longo dos ciclos realizados no reator RC, tratando meio sintético com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 0,4.

Figura 5.45. Eficiências em Remoção de Sulfato e de DQO no Reator com Carvão Vegetal Tratando Meio Sintético com Relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 0,4.

A estabilidade da eficiência em redução de sulfato nessa condição foi observada a partir do 38º ciclo com eficiência média de 34±7%. A eficiência média em remoção de DQO foi de 69±5%. Os valores das variáveis pH, AT, AB e ATV, no efluente, foram: 8,1±0,3, 1163±222 mg.L⁻¹, 1132±230 mg.L⁻¹ e 43±22 mg.L⁻¹, respectivamente. A eficiência em remoção de DQO foi praticamente igual às eficiências observadas no tratamento de meio sintético com relações DQO/[SO₄²⁻] iguais a 3,2 e 1,3. Esse fato indica que o processo sulfetogênico foi limitado pela disponibilidade de doador de elétrons. A baixa concentração de ATV observada no efluente pode ser devida ao consumo de Hac por BRS e por AM. Nesse caso, não ocorreu toxidade devida ao sulfeto. Isso pode ser explicado pela predominância de

sulfeto de hidrogênio como HS^- que é menos tóxico para microrganismos acetoclásticos (MAILLACHERUVU *et al.*, 1996).

A [ST] observada no efluente foi $114 \pm 20 \text{ mg.L}^{-1}$ e somente 7% do sulfeto de hidrogênio estava presente como H_2S . Como ocorreu no tratamento de meio sintético com relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ igual a 1,3, nessa condição não foi detectado metano. Isso pode ser devido à baixa produção desse gás associada a sua utilização como doador de elétrons pelas BRS ou a inibição de AM.

5.5 Considerações Gerais Sobre o Estudo do Processo de Biodessulfatação em ASBBR Utilizando Carvão Vegetal como Material Suporte

A Tabela 5.11 apresenta os valores médios das variáveis monitoradas no efluente do reator RC tratando meio sintético com diferentes relações $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ iguais a 3,2, 1,3 e 0,4.

Tabela 5.11. Valores Médios das Variáveis Monitoradas no Efluente do Reator Contendo Carvão Vegetal como Material Suporte.

Variáveis	Relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$		
	3,2	1,3	0,4
pH	$7,2 \pm 0,2$	$7,0 \pm 0,1$	$8,1 \pm 0,3$
Alcalinidade Total (mg.L^{-1})	779 ± 99	907 ± 81	1163 ± 222
Alcalinidade a Bicarbonato (mg.L^{-1})	746 ± 94	760 ± 103	1132 ± 230
Ácidos Totais Voláteis (mg.L^{-1})	47 ± 19	119 ± 26	43 ± 22
Sulfato (mg.L^{-1})	7 ± 3	26 ± 15	1531 ± 209
Sulfeto (mg.L^{-1})	44 ± 16	110 ± 23	114 ± 20
DQO (mg.L^{-1})	170 ± 70	415 ± 47	291 ± 27
Remoção de DQO (%)	81 ± 8	56 ± 5	69 ± 5
Remoção de Sulfato (%)	98 ± 1	96 ± 2	34 ± 7

A concentração média de ATV, no efluente do reator RC, quando este foi alimentado com meio sintético com relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ igual a 0,4 foi praticamente

igual ao valor observado durante o tratamento de meio sintético com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ de 3,2 (Tabela 5.2).

A eficiência em remoção de DQO no reator RC tratando meio sintético com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4 foi maior do que a obtida tratando meio sintético com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 1,3. Por outro lado, nessas condições observou-se significativa perda de eficiência em relação a redução de sulfato quando a relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ foi diminuída. Concluiu-se que a disponibilidade de doadores de elétrons pode ter sido o fator limitante do processo sulfetogênico. Outro fator que pode ter inibido o processo sulfetogênico é a [ST] dissolvido (107 mg.L^{-1}) ter correspondido a 93% da [ST]. Baseado nas conclusões de MAILACHERUVU *et al.* (1993) essa condição provoca inibição de BRS. Todavia, a [ST] no efluente foi bastante inferior aos valores citados na literatura como tóxicos para microrganismos anaeróbios (ISA *et al.*, 1986; PAULA JR. (1992).

5.6 Comparação do Desempenho dos Reatores com Espuma de Poliuretano e Carvão Vegetal.

Os desempenhos dos reatores RE e RC em relação a remoção de DQO e redução de sulfato, considerando as concentrações remanescentes quando os reatores foram alimentados com meio sintético com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ de 3,2, foram comparados estatisticamente por teste de hipótese (“t de Student”). O teste estatístico foi altamente significativo ($p < 0,001$) para os dados de DQO remanescente e indicaram que o reator RC foi mais eficiente na remoção de DQO do que o reator RE. Em relação à redução de sulfato, o teste foi significativo em nível de 5% ($p < 0,05$), indicando melhor desempenho do reator RC. O melhor desempenho em redução de sulfato do ASBBR utilizando CV como MS pode ser devido a maior quantidade absoluta de biomassa retida, fato observado no estudo de adesão (Figura 5.2). Além disso, os resultados obtidos por FISH no estudo de adesão indicaram maior quantidade de BRS aderida em CV do que em PU (Figura 5.3).

Aos dados de DQO (paramétricos) e concentração de sulfato (não paramétricos) remanescentes, durante a alimentação dos reatores com meio sintético com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ de 1,3, aplicou-se os testes de hipóteses: “t de Student” e “Mann-Whitney”, respectivamente. Os testes estatísticos aplicados não foram

significativos em nível de 5% ($p > 0,05$) indicando que os reatores tiveram desempenhos iguais em remoção de DQO e sulfato.

Aos dados obtidos para $[\text{SO}_4^{2-}]$ e DQO, remanescentes nos reatores tratando meio sintético com relação DQO/ $[\text{SO}_4^{2-}]$ de 0,4, foi aplicado o teste “t de Student”, o qual não foi significativo em nível de 5% ($p > 0,05$) para as duas variáveis, indicando que os reatores tiveram desempenhos iguais em remoção de DQO e redução de sulfato.

5.7 Retenção de Biomassa e Aspectos Microbiológicos

5.7.1 Biomassa no Inóculo

O lodo utilizado como inóculo apresentou concentração média de SSV igual a 41.000 mg.L^{-1} . A Tabela 5.12 e as Figuras 5.46 e 5.47 apresentam as morfologias observadas no inóculo por microscopia ótica.

Tabela 5.12. Morfologias Observadas no Inóculo e Frequências.

Morfologias	Frequência Observada
Arqueas Metanogênicas	
• Arranjos Semelhantes a <i>Methanosarcina sp.</i>	++
• Filamento Semelhante a <i>Methanosaeta sp.</i>	++++
• Bacilos fluorescentes	++++
Bactérias	
• Bacilos com extremidades arredondadas	+
• Bacilos curvos (víbrios)	+++
• Bacilos delgados	++++
• Bacilos ovalados	++
• Cocos	+
• Filamentos	++

(++++) predominantes, (+++) freqüentes, (++) pouco freqüentes, (+) raros, (-) não foram observados.

Figura 5.46. Morfologias Semelhantes a Arqueas Metanogênicas, Observadas no Inóculo por Microscopia Ótica. (A) Arranjos Semelhantes a *Methanosarcina sp.* Observados a Luz Comum; (B) Arranjos Semelhantes a *Methanosarcina sp.* e Bacilos Observados com Fluorescência.

Figura 5.47. Morfologias Observadas por Microscopia Ótica com Luz Comum no Inóculo. (A) Filamentos Semelhantes a *Methanosaeta.sp.*, Bacilos com Extremidades Arredondadas. (B) Bacilos Ovalados, Cocos, Bacilos Curvos (Víbrios).

O inóculo apresentou considerável diversidade microbiana, característica de cultura mista de microrganismos anaeróbios, com espécies pertencentes aos Domínios Arquea e Bactéria, incluindo BRS. Portanto, o lodo proveniente de reator UASB tratando água residuária de abatedouro de aves foi adequado na aplicação como precursor para formação de biofilme e estudo do processo sulfetogênico nos ASBBR(s), com biomassa imobilizada em PU e CV.

Os resultados obtidos por FISH, no inóculo, indicaram predomínio de microrganismos pertencentes ao Domínio *Archaea* (59,5% das células coradas com DAPI) sobre os membros do Domínio *Bactéria* (44,8%), como pode ser observado na Figura 5.48 (HIRASAWA *et al.*, 2003).

Figura 5.48. Composição da comunidade microbiana presente no inóculo. As porcentagens celulares são representadas pela quantidade de RNAr 16S microbiano para os membros pertencentes ao Domínios *Bactéria* (EUB338) e *Archaea* (Arc915) (HIRASAWA *et al.*, 2003).

5.7.2 Biomassa no Reator com Espuma de Poliuretano

Durante o período abrangendo do 1^o ao 30^o ciclos, adicionou-se inóculo ao meio sintético. Nas fases em que o reator foi alimentado com meio sintético com relações DQO/[SO₄²⁻] iguais a 3,2, 1,3, e 0,4, as concentrações médias de SSV afluente foram: 406 mg.L⁻¹, 263 mg.L⁻¹ e, 391 mg.L⁻¹, respectivamente. O volume médio de lodo adicionado em cada fase de operação, foi 255 mL, correspondendo a 5% do volume útil do reator. A partir do 31^o ciclo suspendeu-se a adição de inóculo em todas as fases de operação e a concentração média de SSV no afluente, nas três fases, foi de 91 mg.L⁻¹. As concentrações médias de SSV no efluente foram: 61 mg.L⁻¹, 55 mg.L⁻¹, e 50 mg.L⁻¹, quando o reator RE foi alimentado com meio sintético com relações DQO/[SO₄²⁻] iguais a 3,2, 1,3, e 0,4, respectivamente. Esses resultados indicaram que houve boa retenção de microrganismos constituintes do inóculo no reator RE. A Tabela 5.13 apresenta três formas de quantificação da

biomassa aderida no material suporte (MS) do reator RE: quantidade específica (gSSV.gMS⁻¹), quantidade total em massa (gSSV), e concentração (mgSSV.L⁻¹).

Tabela 5.13. Quantificação da Biomassa Aderida em Espuma de Poliuretano no ASBBR

Relação DQO/[SO ₄ ²⁻]	3,2	1,3	0,4
mgSSV.gMS ⁻¹	583	424	540
gSSV	29,2	21,2	26,5
MgSSV.L ⁻¹	5214	3786	4732
MS – Material Suporte			

A Tabela 5.14 apresenta a descrição das morfologias e suas respectivas frequências, observadas em amostras de PU no reator RE operando em condição de estabilidade em redução de sulfato. A Figura 5.49 apresenta algumas das morfologias observadas.

Observou-se predomínio de bacilos ovalados quando o reator RE foi alimentado com meio sintético com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 3,2 e 1,3. Entretanto, quando passou-se a tratar meio sintético com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 0,4 houve predomínio de víbrios e diminuição na frequência observada das demais morfologias. Os bacilos ovalados podem ser associados a *Dessulfobulbus propionicus spp.*, com base na literatura (MADIGAN *et al.*, 1997). Esses microrganismos oxidam propionato incompletamente a acetato. Dessa forma, a diminuição do número desses microrganismos observada quando o reator RE foi alimentado com meio sintético com relação DQO/[SO₄²⁻] de 0,4 pode ser relacionada com a carência de propionato. De fato, quando o reator RE foi alimentado com meio sintético com relação DQO/[SO₄²⁻] de 0,4 observou-se a menor concentração de ATV (Tabela 5.1).

Tabela 5.14. Morfologias Observadas em Espuma de Poliuretano e suas Frequências.

				Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] inicial		
Morfologias				3,2	1,3	0,4
Arqueas Metanogênicas						
•	Arranjos	Semelhantes	a	+	+	+
	<i>Methanosarcina sp</i>					
•	Filamento	Semelhante	a	+	+	-
	<i>Methanosaeta sp.</i>					
•	Bacilos Fluorescentes			+	+	-
Bactérias						
•	Bacilos arredondados	com Extremidades		+++	+++	++
•	Bacilos Afiladas	com Extremidades		++	++	++
•	Bacilos Curvos (Víbrios)			+++	+++	++++
	•	Bacilos Delgados		++	+++	++
	•	Bacilos Ovalados		++++	++++	++
	•	Bacilos com Grânulos		+++	+++	++
Bactérias						
	•	Cocos		+++	+++	++
	•	Filamentos		++	+	-

(++++) predominantes, (+++) freqüentes, (++) pouco freqüentes, (+) raros, (-) não foram observados

Figura 5.49. Morfologias Observadas em PU. (A) Tratamento do meio sintético com relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ igual a 3,2: bacilos curvos, bacilos delgados, bacilos ovalados, cocos, filamento semelhante a *Methanosaeta sp.*. (B) Tratamento do meio sintético com relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ igual a 1,3: bacilos com extremidades afiladas, bacilos curvos, bacilos ovalados, bacilos com grânulos, cocos. (C) Tratamento do meio sintético com relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ igual a 0,4: víbrios.

5.7.2.1 Quantificação dos Grupos Microbianos por FISH

Os resultados obtidos por FISH em amostras de PU do ASBBR tratando água residuária sintética com relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ igual a 3,2 indicaram predominância de bactérias em relação as arqueas. No 30º ciclo, a porcentagem média de bactérias era 67,4% e aumentou para 74,5% no último ciclo de operação, na Condição A. Nesse período, a densidade populacional de BRS aumentou em 18,1%.

A Figura 5.50 apresenta as porcentagens de células detectadas com as sondas específicas para o domínio bactéria (EUB338), BRS (SRB385), e AM (ARC915) em amostras do MS das partes inferior, meio, e superior do ASBBR com biomassa imobilizada em PU, após o tratamento de água residuária sintética com relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ igual a 3,2..

Figura 5.50. Porcentagem de Eubactérias, Bactérias Redutoras de Sulfato, e Arqueas Metanogênicas Detectadas por FISH na Biomassa Imobilizada em Espuma de Poliuretano, Após o Tratamento de Água Residuária Sintética com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ Igual a 3,2.

A Figura 5.50 mostra que do total das células coradas com DAPI, ou seja, das células hibridadas, o grupo Eubactéria foi predominante nas três regiões do reator analisadas, com média de 74,5%. As BRS foram predominantes no grupo Eubactéria e corresponderam em média a 65,3% das células hibridadas. As AM que eram predominantes no inóculo, corresponderam em média a 23,8% do total de células que foram coradas com DAPI. Esses resultados indicam que a condição de relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2 favoreceu o crescimento das BRS em relação aos outros tipos de microrganismos pertencentes ao grupo Eubactéria. A biomassa imobilizada em PU que originalmente continha AM em maior quantidade (Figura 5.48) tornou-se predominantemente sulfetogênica durante o tratamento de água residuária sintética com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2.

A Figura 5.51 apresenta os resultados obtidos por FISH em PU após tratamento de água residuária sintética com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4. São indicadas apenas as células detectadas com as sondas EUB338 e SRB385. AM não foram detectadas pelo método de FISH. É possível que a concentração desses microrganismos foi inferior a 10^4 células por mililitro que é o limite de detecção do método (AMANN *et al.*, 1995).

Figura 5.51. Porcentagem de Eubactérias e Bactérias Redutoras de Sulfato Detectadas por FISH na Biomassa Imobilizada em Espuma de Poliuretano, Após o Tratamento de Água Residuária Sintética com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ Igual a 0,4.

Durante o tratamento de água residuária sintética com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4 observou-se a inibição da metanogênese pela ausência de metano no biogás do ASBBR. A análise por FISH corroborou essas observações. O grupo Eubactéria representou em média 85,2% das células hibridadas. Todavia, essa condição foi desfavorável para o crescimento das BRS, embora pertencentes ao grupo Eubactéria, esses microrganismos representaram, em média, 17,0% das células coradas com DAPI. O fator mais provável que restringiu o crescimento das BRS durante o tratamento de água residuária com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4 foi a carência de doador de elétrons e fonte de carbono. De fato, o desempenho na redução de sulfato do ASBBR tratando água residuária sintética com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4 melhorou com a adição de etanol em quantidade estequiométrica em relação a concentração de sulfato.

5.7.3 Biomassa no Reator com Carvão Vegetal

As concentrações médias de SSV observadas no efluente do reator RC tratando meio sintético com relações $DQO/[SO_4^{2-}]$ iguais a 3,2, 1,3, e 0,4, foram: $60 \pm 35 \text{ mg.L}^{-1}$, $46 \pm 21 \text{ mg.L}^{-1}$, e $71 \pm 25 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente. As relações em massa entre SSV e MS (gSSV.gMS^{-1}), a quantidade total de biomassa no reator

(gSSV) e a concentração de biomassa no reator (gSSV.L⁻¹) são indicadas na Tabela 5.15.

Tabela 5.15. Quantificação da Biomassa Aderida em Carvão Vegetal no ASBBR

Relação DQO/[SO ₄ ²⁻]	3,2	1,3	0,4
gSSV.gMS ⁻¹	0,3	0,2	0,2
gSSV	368	305	240
gSSV.L ⁻¹	75	62	49

A quantidade específica de biomassa, expressa em SSV, aderida em CV no ASBBR, foi inferior à quantidade específica aderida em PU. Todavia, a quantidade total de biomassa aderida em CV no reator RC foi em média 12 vezes maior do que em PU no reator RE, e a concentração de SSV no ASBBR contendo CV foi 4,5 vezes maior do que no ASBBR contendo PU. Essas diferenças nas quantidades de biomassa aderida foram decorrentes da diferença de densidade entre os dois tipos de material suporte utilizados.

A Tabela 5.16 apresenta a descrição das morfologias e suas respectivas frequências, observadas em amostras de CV no reator RC operando em condição de estabilidade em redução de sulfato. A Figura 5.52 apresenta algumas das morfologias observadas.

Tabela 5.16. Morfologias Observadas em Carvão Vegetal no Final do Tratamento de Meio Sintético com Relação DQO/[SO₄²⁻]: 3,2, 1,3, e 0,4.

				Relação DQO/[SO ₄ ²⁻] inicial		
Morfologias				3,2	1,3	0,4
Arqueas Metanogênicas						
•	Arranjos	Semelhantes	a	++	+	+
	<i>Methanosarcina sp</i>					
•	Filamento	Semelhante	a	++	+	-
	<i>Methanosaeta sp.</i>					
•	Bacilos Fluorescentes			++	+	-
Bactérias						
•	Bacilos arredondados	com	Extremidades	++	++++	+++
•	Bacilos Afiladas	com	Extremidades	+	+	+
•	Bacilos Curvos (Vírios)			++++	+++	++++
•	Bacilos Delgados			++++	+++	+++
•	Bacilos Ovalados			+++	++++	+++
•	Bacilos com Grânulos			++	++	+++
•	Cocos			+++	+++	++++
•	Filamentos			+	+	-

(++++) predominantes, (++++) freqüentes, (++) pouco freqüentes, (+) raros, (-) não foram observados

Figura 5.52. Morfologias Observadas em Carvão Vegetal. (A) Etapa de operação tratando meio sintético com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2: bacilos curvos, bacilos delgados, bacilos ovalados, cocos. (B) Etapa de operação tratando meio sintético com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 1,3: bacilos curvos, bacilos ovalados. (C) Etapa de operação tratando meio sintético com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4: víbrios e cocos.

5.7.3.1 Quantificação dos Grupos Microbianos por FISH

A Figura 5.53 apresenta as porcentagens de células que foram detectadas com as sondas específicas EUB338, SRB385, e ARC915.

No ASBBR contendo CV como MS tratando água residuária sintética com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2 os microrganismos pertencentes ao grupo Eubactéria predominaram nas três regiões do reator analisadas por FISH (superior, meio, e inferior). Esses microrganismos corresponderam em média a 85,3% do total de células hibridadas. Dentre esses, as BRS corresponderam em média a 69,1% das células coradas com DAPI, porcentagem ligeiramente superior à observada em PU (65,3%) nas mesmas condições de tratamento. As AM corresponderam em média a 14% do total de células hibridadas, menos do que foi observado em PU (23,8%).

A Figura 5.53 apresenta as porcentagem de células hibridadas que foram detectadas com as sondas EUB338 e SRB385 em amostras de CV após o tratamento de água residuária sintética com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4. Não foram detectadas AM, possivelmente esses microrganismos estavam presentes em quantidade inferior ao limite de detecção do método ou foram completamente inibidos pelo processo sulfetogênico.

Os microrganismos pertencentes ao grupo Eubactéria corresponderam, em média, a 79,9% do total de células hibridadas. Entretanto, as BRS corresponderam em média a 19,2% do total de células coradas com DAPI, possivelmente, devido à carência de doador de elétrons e fonte de carbono, pois, o desempenho em redução de sulfato foi melhorado com a adição de etanol.

Figura 5.53. Porcentagem de Eubactérias, Bactérias Redutoras de Sulfato, e Arqueas Metanogênicas Detectadas por FISH na Biomassa Imobilizada em Carvão Vegetal, Após o Tratamento de Água Residuária Sintética com Relação DQO/[SO₄²⁻]. Igual a 3,2.

Figura 5.54. Porcentagem de Eubactérias e Bactérias Redutoras de Sulfato Detectadas por FISH na Biomassa Imobilizada em Carvão Vegetal, Após o Tratamento de Água Residuária Sintética com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ Igual a 0,4.

5.8 Avaliação do Efeito da Adição de Etanol no Meio Sintético Afluente

Nessa seção são apresentados os resultados obtidos durante a operação dos ASBBR(s) alimentados com meio sintético com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4, e adição de etanol em quantidades igual e o dobro da estequiométrica em relação à concentração de sulfato.

5.8.1 Adição de Etanol em Quantidade Estequiométrica em Relação à $[SO_4^{2-}]$

Inicialmente, os reatores foram alimentados por 7 ciclos consecutivos somente com meio sintético com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4. Esse procedimento foi necessário porque não houve substituição do MS, mantendo-se a biomassa que estava tratando meio sintético com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 1,3. Dessa forma, quando a concentração de sulfato remanescente no efluente foi constante, iniciou-se a adição de etanol em quantidade estequiométrica. Os valores das variáveis químicas monitoradas no afluente são apresentados na Tabela 5.17.

Tabela 5.17. Valores das Variáveis Químicas Monitoradas no Afluente dos Reatores Alimentados com Meio Sintético com Relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 0,4 e Etanol em Quantidade Estequiométrica.

Afluente						
Ciclo	pH	AT mg.L ⁻¹	AB mg.L ⁻¹	ATV mg.L ⁻¹	[SO ₄ ²⁻] mg.L ⁻¹	DQO mg.L ⁻¹
0	6.9	269	205	90	2750	1000
7	7.7	288	250	54	2640	2216
11	7.2	288	n.a.	n.a.	2223	2333
14	7.5	n.a.	n.a.	n.a.	2537	2333
19	7.5	288	n.a.	n.a.	2870	2857

n.a. – Não Analisado

Quando se iniciou a adição de etanol em quantidade estequiométrica, a relação DQO/[SO₄²⁻] média aumentou para 0,9. A seguir são apresentados os resultados obtidos nos efluentes dos reatores RE e RC.

5.8.1.1 Reator com Espuma de Poliuretano (RE)

Inicialmente, o reator RE foi alimentado com meio sintético com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 0,4 até demonstrar estabilidade em redução de sulfato. Nessa condição iniciou-se a adição de etanol em quantidade estequiométrica. Dessa forma, foram realizados 25 ciclos para a avaliação do efeito do etanol no processo sulfetogênico nesse reator. Os respectivos valores das variáveis monitoradas no efluente são apresentados na Tabela 5.18.

Tabela 5.18. Valores das Variáveis Monitoradas no Efluente do Reator com Espuma de Poliuretano Alimentado com Meio Sintético e Etanol Sendo Adicionado em Quantidade Estequiométrica Relacionada a Concentração de Sulfato.

Ciclo	pH	AT mg.L ⁻¹	AB mg.L ⁻¹	ATV. mg.L ⁻¹	[SO ₄ ²⁻] mg.L ⁻¹	DQO mg.L ⁻¹
0	6,6	1236	1204	44	2000	392
7	7,7	1432	804	884	678	788
11	7,2	1460	779	959	423	1177
14	7,4	n.a.	n.a.	n.a.	437	1433
19	7,7	1742	963	1097	749	1561
25	7,3	1634	1046	828	485	979

AT: Alcalinidade Total; AB: Alcalinidade a Bicarbonato; ATV: Ácidos Voláteis Totais; n.a.: Não Analisado.

Na Tabela 5.18 pode ser observado que a [SO₄²⁻] remanescente no efluente do reator RE diminuiu a partir do 7º ciclo operacional, mantendo-se, a partir desse ciclo, valor médio de 554±149 mg.L⁻¹. Em outras palavras, observou-se aumento da eficiência em redução de sulfato, de 27% para 80% após 7 ciclos adicionando-se etanol no meio sintético, em quantidade estequiométrica em relação à [SO₄²⁻]. Todavia, a DQO remanescente aumentou de 392 mg.L⁻¹ para 1188±317 mg.L⁻¹. Esse aumento na DQO indica que os substratos orgânicos, principalmente etanol, foram oxidados parcialmente, fato comprovado pelo aumento na concentração de ATV remanescente, de 44 mg.L⁻¹ para 942±116 mg.L⁻¹.

Observou-se aumento na AT do efluente, de 1236 mg.L⁻¹ para 1567±147 mg.L⁻¹. Entretanto, a AB diminuiu de 1204 mg.L⁻¹ para 898±128 mg.L⁻¹. O aumento na AT foi devido ao aumento dos ATV e da concentração de sulfeto total. Esse fato também foi observado em RAHLF tratando meio sintético com concentrações crescentes de sulfato (CADAVID *et al.*, 1999). AB foi consumida na neutralização de parte dos ATV. Nessa etapa experimental não foi medida a [ST] no efluente. O reator RE tornou-se completamente sulfetogênico, pois, não foi detectado metano no biogás.

5.8.1.2 Reator com Carvão Vegetal

Foram realizados 25 ciclos no reator RC adicionando-se etanol ao meio sintético em quantidade estequiométrica em relação à $[\text{SO}_4^{2-}]$. Os valores das variáveis monitoradas no efluente do reator RC são apresentados na Tabela 5.19.

Tabela 5.19. Valores das Variáveis Monitoradas no Reator com Carvão Vegetal (RC) Alimentado com Meio Sintético e Etanol Sendo Adicionado em Quantidade Estequiométrica Relacionada a Concentração de Sulfato.

Ciclo	pH	AT mg.L ⁻¹	AB mg.L ⁻¹	ATV mg.L ⁻¹	$[\text{SO}_4^{2-}]$ mg.L ⁻¹	DQO mg.L ⁻¹
0	6,8	1401	1373	40	1800	436
7	7,9	1493	982	720	557	788
11	7,2	1649	972	953	451	944
14	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	458	1270
19	7,6	1920	1206	1005	632	1561
25	7,3	1719	1025	977	412	1305

AT: Alcalinidade Total; AB: Alcalinidade a Bicarbonato; ATV: Ácidos Voláteis Totais; n.a.: Não Analisado.

Observou-se que a $[\text{SO}_4^{2-}]$ remanescente diminuiu de 1800 mg.L⁻¹ para 500±90 mg.L⁻¹, correspondendo ao aumento na eficiência em redução de sulfato de 35% para 82%. A DQO remanescente aumentou de 436 mg.L⁻¹ para 1174±307 mg.L⁻¹. Esse aumento na DQO foi devido ao aumento na concentração de ATV de 40 mg.L⁻¹ para 914±131 mg.L⁻¹. AT aumentou de 1400 mg.L⁻¹ para 1695±177 mg.L⁻¹, em função da geração de alcalinidade devida ao sulfeto e ao aumento dos ATV. AB diminuiu de 1376 mg.L⁻¹ para 1046±109 mg.L⁻¹ devido ao consumo na neutralização de ATV.

A adição de etanol em quantidade estequiométrica em relação à concentração de sulfato resultou em melhoria de desempenho na redução de sulfato com aumento na DQO remanescente. O reator RC apresentou equilíbrio satisfatório, mantendo a AB em níveis adequados para suportar o aumento de ATV. Desse modo, é recomendável a adição de etanol nessa quantidade com a finalidade de aumentar a

eficiência de reatores sulfetogênicos tratando águas residuárias com relações $DQO/[SO_4^{2-}]$ menores que 1,0. Todavia, o efluente desses reatores deverá ser destinado a processo subsequente para remoção da DQO.

5.8.2 Adição de Etanol em Quantidade Correspondendo ao Dobro da Estequiométrica

Nessa etapa do experimento dobrou-se a dosagem de etanol em relação à quantidade estequiométrica a fim de aumentar as eficiências médias em redução de sulfato observadas nos reatores RE e RC após adição de etanol em quantidade estequiométrica. Os valores das variáveis químicas monitoradas no afluente são apresentados na Tabela 5.20.

Quando se adicionou etanol em quantidade correspondente ao dobro da estequiométrica, a relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ média aumentou para 1,3.

Tabela 5.20. Valores das Variáveis Químicas Monitoradas no Afluente dos Reatores Alimentados com Meio Sintético com Relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 0,4 e Etanol em Quantidade Correspondente ao Dobro da Estequiométrica.

Afluente						
Ciclo	pH	AT	AB	AVT	[SO ₄ ²⁻]	DQO
		mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹
0	7,7	198	169	41	1700	1518
3	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
7	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
10	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	1950	2156
14	7,9	196	172	44	1650	3090

AT: Alcalinidade Total; AB: Alcalinidade a Bicarbonato; AVT: Ácidos Voláteis Totais; n.a.: Não Analisado.

5.8.2.1 Reator com Espuma de Poliuretano (RE)

Foram realizados 14 ciclos nessa etapa do experimento. Os valores das variáveis monitoradas no efluente são apresentados na Tabela 5.21.

Tabela 5.21. Valores das Variáveis Monitoradas no Efluente do Reator com Espuma de Poliuretano Alimentado com Meio Sintético e Etanol Sendo Adicionado em Quantidade Correspondente ao Dobro da Estequiométrica em relação a [SO₄²⁻].

Ciclo	pH	AT	AB	ATV	[SO ₄ ²⁻]	ST	DQO
		(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹)
0	6,8	1457	985	665	320	89	935
3	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	270	n.a.	n.a.
7	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	380	82	1643
10	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	190	n.a.	2365
14	6,7	1564	34	2154	120	74	2680

AT: Alcalinidade Total – AB: Alcalinidade a Bicarbonato; ATV: Ácidos Totais Voláteis; n.a.: Não Analisado.

Na Tabela 5.21 pode ser observado que a [SO₄²⁻] remanescente no efluente do reator, observada após 14 ciclos, diminuiu 63% em relação ao início da operação

com a adição de etanol em quantidade correspondente ao dobro da estequiométrica. Por outro lado, a DQO foi quase triplicada, devido ao aumento na concentração de ATV ($665\text{-}2154\text{ mg.L}^{-1}$). AB foi consumida para neutralizar os ATV produzidos com tendência de queda no pH.

O aumento na dosagem de etanol resultou em aumento na eficiência em redução de sulfato para 93%. Porém, houve aumento expressivo na concentração de ATV e, conseqüentemente, da DQO. AB foi totalmente consumida, fato que resultou em desequilíbrio e instabilidade do reator.

5.8.2.2 Reator com Carvão Vegetal (RC)

Foram realizados 14 ciclos nessa etapa do experimento. Os valores das variáveis monitoradas no efluente são apresentados na Tabela 5.22.

Tabela 5.22. Valores das Variáveis Monitoradas no Efluente do Reator com Carvão Vegetal Alimentado com Meio Sintético e Etanol Sendo Adicionado em Quantidade Correspondente ao Dobro da Estequiométrica em relação a $[\text{SO}_4^{2-}]$.

Ciclo	pH	AT (mg.L^{-1})	AB (mg.L^{-1})	ATV (mg.L^{-1})	$[\text{SO}_4^{2-}]$ (mg.L^{-1})	ST (mg.L^{-1})	DQO (mg.L^{-1})
0	6,6	1524	1036	687	200	179	1002
3	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	260	n.a.	n.a.
7	n.a.	694	722	1995	420	82	2062
10	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	260	n.a.	2272
14	6,4	196	0	2267	70	94	2889

AT: Alcalinidade Total – AB: Alcalinidade a Bicarbonato; ATV: Ácidos Totais Voláteis; n.a.: Não Analisado.

Na Tabela 5.22 pode ser observado que a $[\text{SO}_4^{2-}]$ remanescente no efluente do reator RC, após 14 ciclos, diminuiu 65% em relação ao início da operação com a adição de etanol em quantidade correspondente ao dobro da estequiométrica. Por outro lado, a DQO foi quase triplicada, devido ao aumento na concentração de ATV, aumentou de 687 mg.L^{-1} para 2267 mg.L^{-1} . AB foi consumida para neutralizar os ATV produzidos com tendência de queda no pH.

O aumento na dosagem de etanol resultou em aumento na eficiência em redução de sulfato para 96%. Porém, houve aumento expressivo na concentração de ATV e, conseqüentemente, da DQO. AB foi totalmente consumida, fato que resultou em desequilíbrio e instabilidade do reator. Portanto a adição de etanol em quantidade superior a estequiométrica deve ser acompanhada da adição de uma fonte externa de alcalinidade (por exemplo, bicarbonato de sódio) para manter a estabilidade do reator, caso contrário, essa prática deve ser evitada.

5.9 Modelação Cinética – Alimentação dos Reatores com Meio Sintético com Relações DQO/[SO₄²⁻] Igual a 3,2, 1,3, e 0,4.

Nessa seção são apresentados os resultados obtidos nos perfis temporais das variáveis: DQO, [Hac] expressa em DQO e [SO₄²⁻], nos efluentes dos reatores alimentados com meio sintético com relações DQO/[SO₄²⁻] iguais a 3,2, 1,3, 0,4. Os resultados obtidos nesses perfis foram utilizados para ajuste de modelos cinéticos propostos para representar as rotas metabólicas desenvolvidas por BRS, BA e AM nessas condições de estudo.

Nesse trabalho, não foram medidos todos os intermediários de fermentação e nem a concentração de hidrogênio. Dessa forma, optou-se por um modelo simplificado partindo-se da matéria orgânica (MO) representada por polímeros, monômeros e intermediários de fermentação. Hac foi considerado como intermediário no modelo para distinção das rotas de degradação de substratos orgânicos: acetogênica e não-acetogênica. O modelo simplificado é apresentado na Figura 5.55.

Figura 5.55. Diagrama do Modelo Cinético Simplificado para Descrição das Rotas de Utilização de Substratos Orgânicos em Reatores Anaeróbios com Presença de Sulfato.

Na Figura 5.55, S_1 é a matéria orgânica quantificada na forma de DQO, exceto ácido acético, Hac-DQO ou S_2 representa a concentração de ácido acético expressa em DQO, S_3 representa a concentração de sulfato, k_{1A} é a constante cinética da reação de primeira ordem que representa o consumo de S_1 por BA, k_{1S} é a constante cinética da reação de segunda ordem que representa a oxidação incompleta de S_1 por BRS, k_{2S} é a constante cinética da reação de segunda ordem que representa a oxidação completa de S_1 pela via não-acetogênica, por BRS, k_{3M} é a constante cinética da reação de primeira ordem que representa o consumo de ácido acético (S_2) por AM, e k_{3S} é a constante cinética de segunda ordem que representa o consumo de Hac (S_2) por BRS. O modelo cinético gerou o sistema de equações diferenciais composto pelas equações 5.10 a 5.12.

$$\frac{dCS_1}{dt} = -k_{1A}CS_1 - k_{2M}CS_1 - k_{1S}CS_1CS_3 - k_{2S}CS_1CS_3 \quad (5.10)$$

$$\frac{dCS_2}{dt} = k_{1A}CS_1 + k_{1S}CS_1CS_3 - k_{3M}CS_2 - k_{3S}CS_1CS_3 \quad (5.11)$$

$$\frac{dCS_3}{dt} = -k_{1S}CS_1CS_3 - k_{2S}CS_1CS_3 - k_{3S}CS_1CS_3 \quad (5.12)$$

No sistema de equações diferenciais, CS_1 , CS_2 , e CS_3 representam as concentrações (mg.L^{-1}) de S_1 , S_2 e S_3 , respectivamente. Esse sistema de equações diferenciais foi resolvido numericamente pelo método de Runge-Kutta de 4^a ordem, utilizando o programa desenvolvido no Microsoft Excel[®] por DEBASTIANI (2002). Os valores das constantes cinéticas (k_{1A} , k_{1S} , k_{2S} , k_{3M} e k_{3S}) foram arbitrados inicialmente (chute inicial) e, utilizando a ferramenta “Solver” do Microsoft Excel[®], foram minimizados os desvios entre os valores teóricos e os observados experimentalmente. Dessa forma, foram obtidos os valores das constantes cinéticas otimizados. Com a obtenção das constantes cinéticas obteve-se o perfil das velocidades aparentes (r_{ap}) de utilização de substratos orgânicos por BA, BRS e AM. A seguir são apresentados os resultados da modelação cinética nos reatores RE e RC.

5.9.1 Reator com Espuma de Poliuretano (RE) Tratando Meio Sintético com Relação DQO/[SO₄²⁻] Igual a 3,2

A Tabela 5.23 apresenta os valores obtidos em perfis temporais das variáveis: CS1, CS2 e CS3, no reator RE tratando meio sintético com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 3,2 em condição de estabilidade em redução de sulfato. Os valores de [Hac] foram convertidos em DQO multiplicando-os pelo fator 1,07 conforme a reação representada pela equação 5.13. A Figura 5.56 apresenta o ajuste do modelo cinético aos valores medidos nos perfis temporais.

Tabela 5.23. Perfil Temporal das Variáveis: CS1, CS2 e CS3 no reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com Relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 3,2.

Tempo	CS1	CS2	CS3
h	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹
0	521	70	211
2	346	134	171
4	226	73	60
6	n.a.	n.a.	53
8	118	101	38
10	108	101	23
12	112	83	23
n.a. – Não Analisado

Figura 5.56. Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais das Variáveis: CS1, CS2 e CS3 no Reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com Relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 3,2. (T) indica os valores calculados pelo modelo e (E) indica os valores empíricos.

Observa-se na Figura 5.56 que o modelo cinético ajustou-se bem aos dados experimentais. Os testes de hipóteses aplicados, com significância de 5%, indicaram que o modelo cinético proposto foi adequado para representar as principais rotas de utilização de matéria orgânica no reator RE tratando meio sintético com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 3,2. A Tabela 5.24 apresenta os valores das constantes cinéticas obtidas após o ajuste do modelo aos valores empíricos.

Tabela 5.24. Valores das Constantes Cinéticas Calculados pelo Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais

Constantes	Valores ($\times 10^{-4}$)	Unidade
k_{1A}	403	h^{-1}
k_{3M}	10	h^{-1}
k_{1S}	0	$L.mg^{-1}.h^{-1}$
k_{2S}	7	$L.mg^{-1}.h^{-1}$
k_{3S}	0	$L.mg^{-1}.h^{-1}$

Os valores das constantes cinéticas indicam que: (i) S1 foi oxidado parcialmente por BA e BRS. Uma parte de S1 foi oxidada completamente a CO_2 por espécies de BRS oxidadoras completas - (ii) BRS não competiram com AM acetoclásticas pelo Hac. A Figura 5.57 mostra o perfil temporal das velocidades aparentes (r_{ap}) de utilização de substratos orgânicos, inclusive Hac, por BA, BRS e AM. Nessa figura, R1A representa a velocidade de utilização de S1 por BA - R2S representa a velocidade de utilização de S1 por BRS oxidadoras completas - R3M representa a velocidade de utilização de Hac por AM.

Inicialmente, os substratos orgânicos representados por S1 foram mais rapidamente consumidos por BRS oxidadoras completa. Portanto, essa foi a rota de degradação de S1 predominante no reator RE tratando meio sintético com Relação DQO/SO_4^{2-} de 3,2. A metanogênese ocorreu em baixa intensidade. De fato, a quantidade de metano produzida correspondeu a 3% da quantidade teórica, considerando a eficiência média de remoção da DQO (67%) e baseado na relação teórica, em massa, CH_4/DQO igual a 0,25 (METCALF AND EDDY, 1991).

Figura 5.57. Perfil Temporal das Velocidades Aparentes, de Consumo de Substratos Orgânicos, no Reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2.

5.9.2 Reator com Espuma de Poliuretano (RE) Alimentado com Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ Igual a 1,3

A Tabela 5.25 apresenta os valores das variáveis representadas por CS1, CS2 e CS3, medidos em perfis temporais no reator RE tratando meio sintético com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 1,3, em condição de estabilidade em redução de sulfato. A Figura 5.58 apresenta o ajuste do modelo cinético aos valores empíricos, medidos até 12 horas de reação. No ajuste do modelo utilizou-se o intervalo de 12 horas para efeito de padronização nas três condições de relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ avaliadas.

Tabela 5. 25. Perfis Temporais das Variáveis: CS1, CS2, e CS3 no Reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com Relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 1,3.

Tempo	CS1	CS2	CS3
h	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹
0	729	56	520
2	419	129	370
4	n.a	163	300
6	301	166	270
8	251	169	260
10	286	157	200
12	244	181	170
14	280	141	130
20	297	98	2
24	259	111	12

n.a.: Não Analisado

Observa-se na Figura 5.58 que o modelo cinético ajustou-se bem aos dados experimentais. Os testes de hipóteses indicaram similaridade, com significância de 5%, entre os valores teóricos e observados experimentalmente. A Tabela 5.26 apresenta os valores das constantes cinéticas obtidos após o ajuste do modelo aos valores empíricos.

Figura 5.58. Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais das Variáveis: DQO, Ácido Acético como DQO e Sulfato no Reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com Relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ igual a 1,3.

Tabela 5.26. Valores das Constantes Cinéticas Calculados pelo Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais

Constantes	Valores ($\times 10^{-4}$)	Unidade
k_{1A}	361	h^{-1}
k_{1S}	0	$\text{L.mg}^{-1}.\text{h}^{-1}$
k_{2S}	2	$\text{L.mg}^{-1}.\text{h}^{-1}$
k_{3S}	1	$\text{L.mg}^{-1}.\text{h}^{-1}$

Os valores das constantes cinéticas indicam que: (i) parte de S1 foi oxidada a Hac por BA e parte foi oxidada a CO_2 por BRS oxidadoras completas - (ii) Hac foi consumido exclusivamente por BRS acetoclásticas. Nesse modelo considerou-se somente a atividade sulfetogênica, uma vez que não foi detectado metano em amostras do biogás, nessa condição. A Figura 5.59 apresenta o perfil das velocidades aparentes (r_{ap}) de consumo de substratos orgânicos por BA, BRS e AM no reator RE tratando meio sintético com relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ de 1,3.

Figura 5.59. Perfil das Velocidades Aparentes, de Consumo de Substratos Orgânicos, no Reator com Espuma de Poliuretano (RE) Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 1,3.

Na Figura 5.59, R1A representa a velocidade de utilização de S1, por BA, R2S representa a velocidade de utilização de S1 por BRS oxidadoras completas, e R3S representa a velocidade de utilização de Hac por BRS acetoclásticas. Essa figura mostra como as reações sulfetogênicas foram predominantes em relação às reações conduzidas por BA, fato que resultou na melhor eficiência em redução de sulfato (96%), observada no reator RE.

5.9.3 Reator com Espuma de Poliuretano (RE) Alimentado com Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ Igual a 0,4

A Tabela 5.27 apresenta os valores das variáveis representadas por CS1, CS2, e CS3, obtidos em perfis temporais no reator RE tratando meio sintético com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4, em condição de estabilidade em redução de sulfato. A Figura 5.60 apresenta o ajuste do modelo cinético aos valores medidos nos perfis temporais, durante 12 horas de reação.

Tabela 5.27. Perfil Temporal das Variáveis: CS1, CS2, e CS3, no Reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com Relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ igual a 0,4.

Tempo	CS1	CS2	CS3
h	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹
0	660	17	1800
2	441	n.a.	1650
4	269	107	1600
6	255	135	1400
8	297	102	1300
10	n.a.	75	n.a.
12	308	66	1450

n.a.: Não Analisado

Figura 5.60. Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais das Variáveis: CS1, CS2 e CS3 no Reator com Espuma de Poliuretano (RE) Tratando Meio Sintético com Relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ igual a 0,4.

Observa-se na Figura 5.60 que o modelo cinético ajustou-se bem aos dados experimentais. Os testes de hipóteses indicaram similaridade entre os valores teóricos e experimentais com significância de 5%. A Tabela 5.28 apresenta os valores das constantes cinéticas obtidos após o ajuste do modelo aos valores empíricos.

Tabela 5.28. Valores das Constantes Cinéticas Calculados pelo Ajuste do Modelo aos

Valores Medidos nos Perfis Temporais		
Constantes	Valores ($\times 10^{-4}$)	Unidade
k_{1A}	379	h^{-1}
k_{1S}	0	$L.mg^{-1}.h^{-1}$
k_{2S}	0	$L.mg^{-1}.h^{-1}$
k_{3S}	2	$L.mg^{-1}.h^{-1}$

Os valores das constantes cinéticas indicam que: (i) S1 foi oxidado a Hac por BA e este foi consumido por BRS acetoclásticas. Esses resultados refletem a pobre competitividade das BRS por substratos orgânicos em face das BA. Apesar de Hac ter sido utilizado como doador de elétrons por BRS, essa substância estava disponível em baixas concentrações, em comparação com a quantidade de sulfato presente, o que pode explicar a baixa eficiência do reator RE em redução de sulfato nessa condição.

A Figura 5.61 apresenta os perfis das velocidades de utilização de substratos orgânicos por BA e BRS no reator RE alimentado com meio sintético com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ de 0,4.

Figura 5.61. Perfil Temporal das Velocidades de Consumo de Substratos Orgânicos no Reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4.

Na Figura 5.61, R1A representa a velocidade de utilização de S1 por BA, e R3S representa a velocidade de utilização de Hac por BRS. Conclui-se que houve simbiose entre BA e BRS.

5.9.4 Reator com Carvão Vegetal (RC) Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ Igual a 3,2

A Tabela 5.29 apresenta os valores das variáveis representadas por CS1, CS2, e CS3, obtidos nos perfis temporais do reator RC tratando meio sintético com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2, em condição de estabilidade em redução de sulfato. A Figura 4.62 apresenta o ajuste do modelo cinético aos valores medidos nos perfis temporais.

Tabela 5.29. Perfil Temporal das Variáveis Representadas por CS1, CS2, e CS3 no Reator com Carvão Vegetal (RC) Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2.

Tempo	CS1	CS2	CS3
h	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹
0	528	63	283
2	408	109	n.a.
4	216	111	100
6	170	81	60
8	152	57	39
10	165	35	21
12	174	21	19
n.a.: Não Analisado

Figura 5.62. Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais das Variáveis: CS1, CS2 e CS3 no Reator com Carvão Vegetal (RC) Tratando Meio Sintético com Relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 3,2.

Observa-se na Figura 5.62 que o modelo cinético ajustou-se bem aos dados experimentais. Os testes de hipóteses indicaram similaridade entre os valores teóricos e observados, com significância de 5%. A Tabela 5.30 apresenta os valores das constantes cinéticas obtidos após o ajuste do modelo aos valores empíricos.

Tabela 5.30. Valores das Constantes Cinéticas Calculados pelo Ajuste do Modelo Cinético aos Valores das Variáveis Representadas por CS1, CS2, e CS3, Obtidos em Perfis Temporais no Reator com Carvão Vegetal Tratando Meio Sintético com Relação DQO/[SO₄] igual a 3,2.

Constantes	Valores (x10 ⁻⁴)	Unidade
k _{1A}	664	h ⁻¹
k _{3M}	4080	h ⁻¹
k _{1S}	5	L.mg ⁻¹ .h ⁻¹
k _{2S}	0	L.mg ⁻¹ .h ⁻¹
k _{3S}	4	L.mg ⁻¹ .h ⁻¹

Os valores das constantes cinéticas indicam que: (i) S1 foi utilizado por BA e BRS oxidadoras incompletas - (3) Hac foi consumido por AM e BRS acetoclásticas.

A Figura 5.63 apresenta o perfil das velocidades aparentes (r_{ap}) de utilização de substratos orgânicos por BA, BRS e AM.

Figura 5.63. Perfil das Velocidades de Consumo de Substratos Orgânicos no Reator com Carvão Vegetal (RC) Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2.

Na Figura 5.63, R1A representa a velocidade de utilização de S1 por BA – R1S representa a velocidade de utilização de S1 por BRS oxidadoras incompletas - R3M representa a velocidade de utilização de Hac por AM – R3S representa a velocidade de utilização de Hac por BRS. Nessa figura pode ser observado que S1 foi mais rapidamente utilizado por BRS oxidadoras incompletas. AM consumiram mais rapidamente Hac do que BRS. De fato, a quantidade de metano produzida no reator RC tratando meio sintético com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2 foi dez vezes maior do que a quantidade produzida no reator RE, tratando meio sintético nas mesmas condições. Apesar da metanogênese ter sido predominante no reator RC, nessa condição, a eficiência média em redução de sulfato foi de 98%.

5.9.5 Reator com Carvão Vegetal (RC) Alimentado com Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ Igual a 1,3

A Tabela 5.31 apresenta os valores das variáveis representadas por CS1, CS2, CS3 obtidos em perfis temporais no reator RC tratando meio sintético com relação

DQO/[SO₄²⁻] igual a 1,3, em condição de estabilidade em redução de sulfato. A Figura 5.64 apresenta o ajuste do modelo cinético aos valores empíricos.

Tabela 5. 31. Perfil Temporal das Variáveis: CS1, CS2 e CS3 no Reator com Carvão Vegetal (RC) Tratando Meio Sintético com Relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 1,3.

Tempo	CS1	CS2	CS3
h	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹
0	735	15	600
2	367	122	440
4	267	142	330
6	274	144	290
8	276	123	240
10	304	97	145
12	295	66	95
20	280	55	11
24	244	68	10

Figura 5.64. Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais das Variáveis: S1, S2 e S3 no Reator com Carvão Vegetal (RC) Tratando Meio Sintético com Relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 1,3.

Observa-se na Figura 5.64 que o modelo cinético ajustou-se bem aos dados experimentais. Os testes estatísticos indicaram similaridade entre os valores teóricos e os observados, com significância de 5%. A Tabela 5.32 apresenta os valores das constantes cinéticas obtidos após o ajuste do modelo aos valores empíricos.

Tabela 5.32. Valores das Constantes Cinéticas Calculados pelo Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais

Constantes	Valores ($\times 10^{-4}$)	Unidade
k_{1A}	416	h^{-1}
k_{1S}	0	h^{-1}
k_{2S}	2	$L.mg^{-1}.h^{-1}$
k_{3S}	5	$L.mg^{-1}.h^{-1}$

Os valores das constantes cinéticas indicam que: (1) S1 foi utilizado por BA e BRS oxidadoras completas - (2) BRS acetoclásticas consumiram, o Hac gerado na acidogênese. A Figura 5.65 apresenta o perfil das velocidades de utilização de substratos orgânicos por BA, BRS e AM.

Figura 5.65. Perfis Temporais das Velocidades de Consumo de Substratos Orgânicos no Reator com Carvão Vegetal Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 1,3.

Na Figura 5.65, R1A representa a velocidade de utilização S1 por BA – R2S representa a velocidade de utilização de S1 por BRS oxidadoras completas – R3S representa a velocidade de utilização de Hac por BRS. S1 foi consumido mais rapidamente por BRS oxidadoras completas.

5.9.6 Reator com Carvão Vegetal (RC) Alimentado com Meio Sintético com Relação DQO/[SO₄²⁻] Igual a 0,4

A Tabela 5.33 apresenta os valores das variáveis representadas por CS1, CS2, e CS3, obtidos em perfis temporais no reator RC tratando meio sintético com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 0,4 em condição de estabilidade em redução de sulfato.

Tabela 5. 33. Perfil Temporal das Variáveis: CS1, CS2 e CS3 no Reator com Carvão Vegetal (RC) Tratando Meio Sintético com Relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 0,4.

Tempo	CS1	CS2	CS3
h	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹
0	622	21	1750
2	n.a.	93	1550
4	267	116	1400
6	254	147	1500
8	359	93	1300
10	347	55	1200
12	271	47	1300

A Figura 5.66 apresenta o ajuste do modelo cinético aos valores medidos nos perfis temporais.

Figura 5.66. Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais das Variáveis: CS1, CS2, e CS3 no Reator com Carvão Vegetal (RC) Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4.

Observa-se na Figura 5.66 que o modelo cinético ajustou-se bem aos dados experimentais. Os testes estatísticos indicaram similaridade entre os valores medidos e os valores calculados pelo modelo cinético, com significância de 5%. A Tabela 5.34 apresenta os valores das constantes cinéticas obtidos após o ajuste do modelo aos valores empíricos.

Tabela 5.34. Valores das Constantes Cinéticas Calculados pelo Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais no Reator com Carvão Vegetal Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4.

Constantes	Valores ($\times 10^{-3}$)	Unidade
k_{1A}	266	h^{-1}
k_{1S}	0	$L.mg^{-1}.h^{-1}$
k_{2S}	0	$L.mg^{-1}.h^{-1}$
k_{3S}	2	$L.mg^{-1}.h^{-1}$

Os valores das constantes cinéticas indicam que: (i) S1 foi consumido predominantemente por BA - (2) Hac foi preferencialmente consumido por BRS

acetoclásticas. A Figura 5.67 apresenta o perfil das velocidades de utilização de substratos orgânicos por BA, BRS e AM.

Figura 5.67. Perfil das Velocidades de Consumo de Substratos Orgânicos no Reator com Carvão Vegetal (RC) Tratando Meio Sintético com Relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 0,4.

Na Figura 5.67, R1A representa a velocidade de consumo S1 por BA – R3S representa a velocidade de consumo de Hac por BRS.

5.9.7 Considerações Gerais Sobre a Modelação Cinética

A Tabela 5.35 apresenta a comparação dos parâmetros cinéticos determinados para o reator RE, tratando água residuária sintética com relações DQO/[SO₄²⁻] iguais a 3,2, 1,3, e 0,4.

O modelo cinético proposto indicou que houve atividade metanogênica acetoclástica apenas quando a relação DQO/[SO₄²⁻] da água residuária sintética foi igual a 3,2. Todavia, a quantidade de metano detectada no biogás nessa condição foi baixa (11 mg.L⁻¹), indicando predominância da sulfetogênese. Esses resultados corroboram a avaliação microbiana por hibridação *in situ* com fluorescência (FISH) que indicou predominância do Domínio Bactéria (74,5% das células coradas com DAPI) sobre o Domínio Archaea (23,8% das células coradas com DAPI).

Tabela 5.35. Comparação dos Parâmetros Cinéticos Determinados para o ASBBR Contendo Espuma de Poliuretano Tratando Água Residuária Sintética com Relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 3,2, 1,3, e 0,4.

Relação DQO/[SO ₄ ²⁻]	k _{1A} (h ⁻¹)	k _{3M} (h ⁻¹)	k _{1S} L.mg ⁻¹ .h ⁻¹	k _{2S} L.mg ⁻¹ .h ⁻¹	k _{3S} L.mg ⁻¹ .h ⁻¹
3,2	4,03x10 ⁻²	1,00x10 ⁻³	0	7,00x10 ⁻⁴	0
1,3	3,61x10 ⁻²	n.d.	2x10 ⁻⁴	2,00x10 ⁻⁴	1,00x10 ⁻⁴
0,4	3,79x10 ⁻²	n.d.	0	0	2,00x10 ⁻⁴

n.d.: Não Determinado

Nas outras duas condições, água residuária sintética com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 1,3 e 0,4, o modelo presumiu que não houve metanogênese. De fato, não foi detectado metano em amostras do biogás durante a operação dos ASBBR's tratando água residuária sintética com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 1,3 e 0,4 e não foram detectadas arqueas pela sonda ARC915 na avaliação por FISH em PU após o tratamento de água residuária sintética com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 0,4. A comunidade microbiana desenvolvida durante o tratamento de água residuária sintética com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 1,3 não foi avaliada por FISH. Todavia, os valores das constantes cinéticas determinadas para as condições de água residuária sintética com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 1,3 e 0,4 foram iguais. Esses resultados sugerem que nessas duas condições as AM foram inibidas.

O modelo cinético utilizado também indicou que, durante o tratamento de esgoto sintético com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 3,2, a atividade sulfetogênica foi conduzida somente pelas BRS oxidadoras completas. Esse fato pode estar associado com interações sintróficas entre BRS e BA. De acordo com MIZUNO *et al.* (1998), as BRS desempenham importante papel na transferência de H₂ interespecies. É possível que a matéria orgânica adicionada tenha sido convertida em intermediários, como, por exemplo, propionato, butirato e acetato pelas BA e, nesse caso, as BRS competiram com AM pelo hidrogênio produzido. As BRS apresentam vantagem termodinâmica na competição por hidrogênio com AM e bactérias homoacetogênicas (MIZUNO *et al.*, 1998). Os valores da variação de energia livre em condições

padronizadas (pH neutro e todos os reagentes em concentração 1 M), indicado por ΔG° , para as reações de consumo de hidrogênio por esses microrganismos, são: -151,9 kJ/reação, -135,6 kJ/reação, e -104 kJ/reação, respectivamente.

Na condição de tratamento de água residuária sintética com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 3,2, as BRS não competiram por acetato com AM. De acordo com ISA *et al.* (1986), espécies de AM apresentaram vantagem sobre BRS marinhas na competição por acetato. Esses autores observaram que somente acetato como doador de elétrons não foi conveniente para BRS, porém, esses microrganismos apresentaram vantagem sobre AM na competição por acetato quando foi utilizada uma mistura de etanol e acetato como doador de elétrons. Uma possível explicação para esse fato é o baixo valor da variação de energia livre envolvendo a utilização de acetato por BRS (ΔG° igual a -47 kJ/reação). Esse valor de ΔG° , apresentado por ISA *et al.* (1986), resulta em rendimento energético cerca de 3 vezes menor do que o valor para a reação envolvendo o consumo de H₂ por BRS.

Na condição de tratamento de água residuária sintética com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 0,4 o modelo cinético utilizado implicou que além da atividade metanogênica a sulfetogênese também foi inibida, com exceção das BRS acetoclásticas. De fato, o ASBBR contendo PU apresentou o pior desempenho em redução de sulfato durante o tratamento de água residuária sintética com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 0,4 (31%), ao contrário do que ocorreu no tratamento de água residuária sintética com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 1,3. Nessa condição a eficiência em redução de sulfato foi, em média, 96%, o melhor desempenho observado.

De acordo com os parâmetros cinéticos determinados na condição de tratamento com água residuária sintética com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 1,3, as BRS oxidadoras incompletas competiram com as BA pela matéria orgânica adicionada e com as AM por H₂ (Tabela 4.36). Na condição de tratamento de água residuária com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 0,4 o modelo cinético indicou que as BA levaram vantagem sobre as BRS na competição pela matéria orgânica adicionada e as BRS utilizaram somente Hac como doador de elétrons e fonte de carbono, em reação com baixo rendimento de energia (ΔG° igual a -47 kJ/reação), o que pode justificar a baixa eficiência em redução de sulfato. Esses resultados corroboram as observações na comunidade microbiana analisadas por FISH, segundo as quais

houve predomínio dos microrganismos pertencentes ao Domínio Eubactéria (85% das células coradas com DAPI) e a porcentagem média de BRS identificadas pela sonda SRB385, pertencentes ao Domínio Eubactéria, correspondeu a 21% das células coradas com DAPI. Em outras palavras, o número de BRS foi 64% inferior ao número de BA. A Tabela 5.36 apresenta a comparação dos parâmetros cinéticos determinados para o ASBBR contendo CV como material suporte, tratando água residuária sintética com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 3,2, 1,3, e 0,4.

Tabela 5.36. Comparação dos Parâmetros Cinéticos Determinados para o ASBBR Contendo Carvão Vegetal Tratando Água Residuária Sintética com Relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 3,2, 1,3, e 0,4.

Relação DQO/[SO ₄ ²⁻]	k _{1A} (h ⁻¹)	k _{3M} (h ⁻¹)	k _{1S} L.mg ⁻¹ .h ⁻¹	k _{2S} L.mg ⁻¹ .h ⁻¹	k _{3S} L.mg ⁻¹ .h ⁻¹
3,2	6,64x10 ⁻²	4,08x10 ⁻¹	5,00x10 ⁻⁴	0	4,00x10 ⁻⁴
1,3	4,16x10 ⁻²	n.d.	0	2,00x10 ⁻⁴	5,00x10 ⁻⁴
0,4	2,66x10 ⁻²	n.d.	0	0	2,00x10 ⁻⁴
n.d. – Não Determinado.					

No reator RC, o ajuste do modelo cinético aos dados experimentais indicou que, na condição de tratamento de água residuária sintética com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 3,2, a sulfetogênese foi conduzida somente por BRS oxidadoras incompletas de substratos orgânicos, as quais competiram com BA pela matéria orgânica adicionada. Os valores das constantes cinéticas determinadas para as reações mediadas pelas BA e BRS imobilizadas em CV foram maiores do que aqueles determinados com a biomassa imobilizada em PU. Igualmente ao observado no reator RE, a metanogênese acetoclástica ocorreu somente quando o reator RC tratou água residuária sintética com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 3,2. Nessa condição houve competição entre BRS e AM pelo acetato disponível.

Os valores das constantes cinéticas determinadas para o consumo de Hac por AM e BRS imobilizadas em CV foram maiores do que os valores observados com esses microrganismos imobilizados em PU. No caso da metanogênese, foi observado que a concentração de metano no biogás do ASBBR contendo CV foi cerca de dez

vezes superior à concentração observada no biogás do ASBBR contendo PU. Entretanto, a avaliação microbiana por FISH indicou que a população de AM em CV foi em média 14%, enquanto que em PU foi em média 24% do total de células coradas com DAPI. Dessa forma, a maior atividade metanogênica no ASBBR contendo CV, indicada pela concentração de metano no biogás e pelo maior valor da constante cinética (k_{3M} na Tabela 4.36) não está associada com quantidade específica de AM aderidas, mas, pode estar associada com a quantidade total de biomassa no reator.

O modelo cinético presumiu que, durante o tratamento de água residuária sintética com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 1,3 no reator RC, ocorreu interação sintrófica entre BA produtoras de H_2 e BRS consumidoras de H_2 e interação competitiva entre AM e BRS acetoclásticas. Esses resultados indicam que a matéria orgânica adicionada foi completamente oxidada a CO_2 , via redução de sulfato, e a metano. Entretanto, a eficiência em remoção de DQO no reator RC (56%) foi inferior à observada no reator RE (61%) e o desempenho em redução de sulfato foi igual nesses dois reatores (96%).

Os parâmetros cinéticos obtidos para o reator RC tratando água residuária com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4 indica predomínio da sulfetogênese e esse processo ocorreu por conta das BRS acetoclásticas da mesma forma que no reator RE.

Os resultados obtidos na análise cinética indicam que para o processo de biodessulfatação, o tratamento de água residuária sintética com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 1,3 foi a melhor condição. Sulfato foi reduzido a sulfeto por BRS oxidadoras incompletas de substratos orgânicos, oxidadoras completas de substratos orgânicos e acetoclásticas. De fato, os melhores desempenhos em redução de sulfato dos ASBBR's contendo biomassa imobilizada em PU e CV (96%) foram observados quando esses reatores trataram água residuária sintética com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 1,3.

5.10 Modelação Cinética – Alimentação dos Reatores com Meio Sintético com Relação DQO/[SO₄²⁻] Igual a 0,4 e com Adição de Etanol

A seguir são apresentados os resultados da modelação cinética dos reatores RE e RC alimentados com meio sintético com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 0,4 e suplementado com etanol, adicionado em quantidade estequiométrica em relação à concentração de sulfato.

5.10.1 Reator com Espuma de Poliuretano (RE)

A Tabela 5.37 apresenta os valores das variáveis: CS1, CS2, e CS3, obtidos nos perfis temporais do reator RE tratando meio sintético com relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 0,4, suplementado com etanol em quantidade estequiométrica em relação a [SO₄²⁻], operando em condição de estabilidade em redução de sulfato.

A Figura 5.68 apresenta o ajuste do modelo cinético aos valores medidos nos perfis temporais. Os testes estatísticos aplicados indicaram similaridade entre os valores teóricos e experimentais com significância de 5%. A Tabela 5.38 apresenta os valores das constantes cinéticas obtidos após o ajuste do modelo aos valores empíricos.

Tabela 5.37. Perfil Temporal das Variáveis: CS1, CS2, e CS3 no Reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com Relação

DQO/[SO ₄ ²⁻] igual a 0,4 e Etanol				
Tempo	CS1	CS2	CS3	Etanol
h	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹	mg.L ⁻¹
0	1585	281	1740	512
2	1899	498	1140	294
4	1538	997	900	35
6	1398	614	740	6
8	1492	1047	680	1
10	1910	1871	680	1
12	1247	1058	540	1
14	1398	1411	480	0
23	1631	1635	400	0
24	1841	824	400	0

Figura 5.68. Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais das Variáveis: CS1, CS2 e CS3 no Reator com Espuma de Poliuretano (RE) Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4 e Etanol.

Tabela 5.38. Valores das Constantes Cinéticas Calculados pelo Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais no Reator RE Alimentado com Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4 e Etanol.

Constantes	Valores ($\times 10^{-4}$)	Unidade
k_{1A}	0	h^{-1}
K_{1S}	1	$L.mg^{-1}.h^{-1}$
K_{2S}	0	$L.mg^{-1}.h^{-1}$
K_{3S}	0	$L.mg^{-1}.h^{-1}$

Os valores das constantes cinéticas indicam que S1 foi utilizado somente por BRS oxidadoras incompletas, pois as outras constantes tiveram valor nulo. A Figura 4.69 apresenta o perfil da velocidade de utilização de S1 por BRS.

Figura 5.69. Perfil Temporal da Velocidade Aparente, de Consumo de Substratos Orgânicos (r_{ap}) no Reator com Espuma de Poliuretano Tratando Meio Sintético com Relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4.

A Figura 5.69 mostra que os substratos orgânicos foram oxidados incompletamente por BRS e Hac acumulou no reator, nessa condição.

5.10.1.1 Reator com Carvão Vegetal (RC)

A Tabela 5.39 apresenta os valores das variáveis representadas por CS1, CS2, e CS3, obtidos em perfis temporais no reator RC tratando meio sintético com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4, suplementado com etanol em quantidade estequiométrica em relação a $[SO_4^{2-}]$, operando em condição de estabilidade em redução de sulfato. A Figura 5.70 apresenta o ajuste do modelo cinético aos valores medidos nos perfis temporais. O modelo cinético ajustou-se bem aos dados experimentais. Os testes estatísticos indicaram similaridade entre os conjuntos de valores teóricos e experimentais, com significância de 5%. A Tabela 5.40 apresenta os valores das constantes cinéticas obtidos após o ajuste do modelo aos valores medidos experimentalmente.

Tabela 5.39. Perfil Temporal das Variáveis: CS1, CS2 e CS3 no Reator com Carvão Vegetal Tratando Meio Sintético com Relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ igual a 0,4 e Etanol.

Tempo h	CS1 mg.L^{-1}	CS2 mg.L^{-1}	CS3 mg.L^{-1}	Etanol mg.L^{-1}
0	1794	471	1740	631
2	1899	693	1120	369
4	1480	577	1000	152
6	1631	1495	700	34
8	1748	962	620	8
10	1538	1637	560	n.a.
12	1445	1568	560	6
14	1410	1547	420	0
23	1259	849	360	0
24	1911	1072	360	0

n.a.: Não Analisado

Figura 5.70. Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais das Variáveis: DQO, Hac como DQO e Sulfato no Reator com Carvão Vegetal Tratando Meio Sintético com Relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ igual a 0,4.

Tabela 5.40. Valores das Constantes Cinéticas Calculados pelo Ajuste do Modelo Cinético aos Valores Medidos nos Perfis Temporais

Constantes	Valores ($\times 10^{-4}$)	Unidade
k_{1A}	0	h^{-1}
K_{1S}	1	$L.mg^{-1}.h^{-1}$
K_{2S}	0	$L.mg^{-1}.h^{-1}$
K_{3S}	0	$L.mg^{-1}.h^{-1}$

Os valores das constantes cinéticas indicam que, praticamente, toda a matéria orgânica adicionada foi convertida a Hac por BRS oxidadoras incompletas, com tendência ao acúmulo desse ácido. A Figura 5.71 apresenta o perfil das velocidades aparentes de consumo (r_{ap}) S1 por BA e de Hac por BRS.

Figura 5.71. Perfil da Velocidades de Utilização de S1 por BRS no Reator com Carvão Vegetal Tratando Meio Sintético com Relação DQO/[SO₄²⁻] igual a 0,4.

5.11 Oxidação Parcial do Sulfeto em Reator Aeróbio

Nessa etapa, os reatores sulfetogênico, ASBBR (R1) e aeróbio, SBBR (R2) foram monitorados durante 80 ciclos de 24 horas. A Tabela 5.41 apresenta os resultados do monitoramento das variáveis: [SO₄²⁻], [ST] e OD.

Até o 39º ciclo R1 foi alimentado com meio sintético com [SO₄²⁻] média de 790 mg.L⁻¹ e DQO média de 1110 mg.L⁻¹, correspondendo à relação DQO/[SO₄²⁻] de

1,4. Nessa condição, a eficiência média em redução de sulfato foi 52%, gerando sulfeto em concentração de $134 \pm 70 \text{ mg.L}^{-1}$. Nesse período, R2 apresentou eficiência média em remoção de sulfeto igual a 88% (concentração de sulfeto remanescente de $16 \pm 9 \text{ mg.L}^{-1}$). A $[\text{SO}_4^{2-}]$ remanescente nesse reator foi 470 mg.L^{-1} .

Tabela 5.41. Valores das Variáveis: $[\text{SO}_4^{2-}]$, [ST] e OD nos reatores ASBBR (R1) e SBBR (R2)

Ciclos	Afluente	$[\text{SO}_4^{2-}]$ (mg.L^{-1})		ST (mg.L^{-1})		OD (mg.L^{-1})
		R1	R2	R1	R2	R2
15	n.a.	390	420	46	33	n.a.
22	850	520	320	48	5	0,50
25	n.a.	310	690	192	16	n.a.
29	775	360	680	81	14	0,06
31	n.a.	340	440	199	14	0,10
32	n.a.	270	370	226	23	0,05
38	750	397	398	133	10	0,06
39	n.a.	419	468	147	14	n.a.
52	n.a.	68	116	140	36	0,05
59	n.a.	69	144	178	10	0,05
76	n.a.	35	251	184	43	0,40
80	n.a.	24	163	256	61	0,10

n.a. – Não Analisado

Esses resultados indicaram que cerca de 20% do sulfeto gerado no reator sulfetogênico foram reoxidados a sulfato devido à introdução de ar, quando a concentração de OD foi superior a $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ e 68% foram oxidados parcialmente a enxofre elementar, desprezando-se a quantidade de enxofre utilizada para a síntese celular.

A Figura 5.72 apresenta a variação da $[\text{SO}_4^{2-}]$ nos reatores R1 e R2, e a Figura 5.73 apresenta a variação na $[\text{ST}]$ nos reatores R1 e R2, e o desempenho do reator R2, em remoção de sulfeto.

Figura 5. 72. Concentração de Sulfato nos Reatores Sulfetogênico (R1) e Aeróbio (R2) ao Longo dos Ciclos Realizados.

Figura 5.73. Concentração de Sulfeto nos Reatores Sulfetogênico (R1) e Aeróbio (R2), e da Eficiência em Remoção de Sulfeto no Reator Aeróbio (ER2) ao Longo dos Ciclos Realizados.

A partir do 40º ciclo, etanol passou a ser adicionado como doador de elétrons suplementar ao meio sintético, em quantidade estequiométrica em relação à $[\text{SO}_4^{2-}]$ (relação etanol/ $[\text{SO}_4^{2-}]$ igual a 0,67). Nessa condição a eficiência em redução de sulfato aumentou para 94% em R1, gerando sulfeto em concentração média igual a $190 \pm 50 \text{ mg.L}^{-1}$. A eficiência em remoção de sulfeto em R2, nessa condição, foi igual a 80%.

Quando R2 apresentou estabilidade em redução de sulfeto, realizou-se o perfil temporal nesse reator. Os valores de sulfeto medidos foram utilizados para ajuste de modelo cinético de primeira ordem e obtenção da constante cinética de consumo de sulfeto. A Figura 5.74 apresenta o ajuste do modelo cinético de primeira ordem aos valores de concentração de sulfeto medidos.

Figura 5.74. Ajuste de Modelo Cinético de Primeira Ordem aos Valores de Concentração de Sulfeto Total Obtidos no Perfil Temporal do Reator R2.

O ajuste do modelo cinético de primeira ordem aos dados experimentais foi adequado, conforme os resultados dos testes estatísticos aplicados (análise de resíduos seguida pelo teste de valores extremos com base nos desvios) com significância de 5%. O valor da constante cinética de primeira ordem aparente (k_{ap}) obtido para o consumo de sulfeto no processo foi $0,03 \text{ h}^{-1}$.

As Figuras 5.75 a 5.77 apresentam os resultados da quantificação de enxofre elementar pela técnica de fluorescência de raios X com dispersão de energia (EDXRF) em amostras de sólidos desprendidos de amostras do MS e coletadas na superfície, meio e fundo do SBBR. As energias emitidas pelos átomos dos elementos da amostra (O, Si, Na e S) como resultado da excitação causada pela exposição aos raios X são representadas pelas abscissas. No eixo das ordenadas são representadas as intensidades de detecção dessas energias. Esses valores são proporcionais a quantidade de cada elemento presente em cada amostra analisada, apresentados na Tabela 5.42.

Figura 5.75. Intensidade da Quantidade de Energia Detectada pelo Equipamento de EDXRF em Amostras Coletadas na Altura Superior do Reator.

Figura 5.76. Intensidade da Quantidade de Energia Detectada pelo Equipamento de EDXRF em Amostras Coletadas na Altura Central do Reator.

Figura 5.77. Intensidade da Quantidade de Energia Detectada pelo Equipamento de EDXRF em Amostras Coletadas na Altura Inferior do Reator.

Dessa forma, os resultados obtidos por EDXRF confirmaram que a maior parte do enxofre elementar produzido concentrou-se na superfície do reator, como mostra a Figura 5.78, onde ocorreu a maior relação em massa entre sólidos suspensos e MS (158 mg. mg^{-1}). Amostras de MS do meio e fundo do reator apresentaram relação em massa entre SS e MS média de 23 mg. mg^{-1} .

Tabela 5.42. Porcentagem em massa dos Elementos Detectados por EDXRF nos Sólidos Retidos em Espuma de Poliuretano

	Superfície	Meio	Fundo
Oxigênio	27,2	62,5	63,1
Sódio	n.d.	7,0	n.d.
Silício	n.d.	5,4	9,7
Enxofre	71,1	25,1	27,2

n.d.: Não Determinado

Figura 5.78. Reator Sulfetogênico, ASBBR (1) e Reator Aeróbio, SBBR (2).

Na Figura 5.78 pode ser observado enxofre aderido nas paredes da parte superior do reator aeróbio, bem como no reator ASBBR. Parte do enxofre na superfície foi formada por oxidação química do H_2S (g) devido à introdução de oxigênio durante as operações de descarga dos reatores. Entretanto, exames de microscopia ótica revelaram a presença de morfologias em forma de bacilos com grânulos (possivelmente enxofre), em material raspado na parede do reator. Esses microrganismos também foram observados em amostras de PU que constituiu o material suporte.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nesse trabalho conduziram as seguintes conclusões:

- I. A escolha correta do material suporte a ser utilizado em reatores anaeróbios com biomassa imobilizada é fundamental para se conseguir o melhor desempenho de processos biológicos empregados com diversas finalidades. As diferentes características entre os materiais suporte possíveis de serem utilizados, conduz a diferentes equilíbrios microbianos.
- II. Entre os quatro tipos de materiais suporte avaliados: espuma de poliuretano (PU), carvão vegetal (CV), polietileno de baixa densidade reciclado (PE), e cerâmica porosa confeccionada com alumina (CE), BRS aderiram melhor em PU e CV.
- III. No tratamento de água residuária sintética com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2 as BRS foram mais competitivas por substratos orgânicos e hidrogênio do que as BA e AM. Esse fato foi observado na análise de desempenho dos ASBBR's contendo biomassa imobilizada em PU e CV, e confirmado posteriormente por exame microbiológico pelo método de "hibridação *in situ* com fluorescência (FISH)".
- IV. O ASBBR contendo CV como material suporte apresentou melhor desempenho em remoção de DQO e de sulfato do que o ASBBR contendo PU, no tratamento de água residuária sintética com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2.
- V. Durante o tratamento de água residuária sintética com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 1,3 não foi detectado metano no biogás gerado nos ASBBR's contendo biomassa imobilizada em PU e em CV. Metano pode ter sido produzido em pequena quantidade e utilizado como doador de elétrons para as BRS ou a atividade metanogênica pode ter sido completamente inibida na competição por substratos orgânicos e hidrogênio entre AM e BRS.

- VI. Os ASBBR's contendo PU e CV como materiais suporte apresentaram desempenhos iguais em remoção de DQO e redução de sulfato no tratamento de água residuária sintética com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 1,3.
- VII. No tratamento de água residuária sintética com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4 os ASBBR's com PU e com CV tornaram-se completamente sulfetogênicos. Esse fato foi constatado pela inexistência de metano no biogás e confirmado por FISH, método pelo qual não se detectou arqueas metanogênicas na comunidade microbiana imobilizadas nos materiais suporte dos respectivos reatores.
- VIII. Na condição de tratamento de água residuária sintética as bactérias acidogênicas foram mais competitivas pela matéria orgânica adicionada do que as BRS, fato comprovado pela baixa porcentagem de BRS detectadas pela sonda SRB385 em relação à porcentagem de bactérias detectadas pela sonda EUB358 na avaliação microbiana por FISH em PU e CV. Esses resultados justificam o pior desempenho em redução de sulfato no tratamento de água residuária sintética com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 0,4, comparado com os desempenhos obtidos no tratamento de água residuária sintética com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 3,2 e 1,3.
- IX. O tratamento de água residuária sintética com relação $DQO/[SO_4^{2-}]$ igual a 1,3 foi o mais favorável para o processo de biodessulfatação.
- X. A adição de etanol em quantidade estequiométrica à concentração de sulfato resultou em melhoramento do desempenho em redução de sulfato nos ASBBR's avaliados. Todavia ocorre aumento na concentração de ácidos voláteis, possivelmente, devido a oxidação incompleta do etanol a acetato pelas BRS. Dosagens de etanol superiores à estequiométrica é inviável para o processo de biodessulfatação. O acúmulo de Hac pode inibir as próprias BRS.
- XI. A modelação cinética demonstrou ser uma importante ferramenta ser utilizada para identificação das rotas metabólicas ocorrendo em reatores anaeróbios no tratamento de águas residuárias contendo sulfato. As informações geradas pelo ajuste do modelo cinético a dados empíricos podem ser utilizadas para direcionar os processos biológicos de acordo com suas finalidades, ou seja, remoção de matéria orgânica concomitante com redução

de sulfato ou operar o reator exclusivamente para reduzir sulfato.

- XII. A utilização de reator aeróbio ($OD \leq 0,1 \text{ mg.L}^{-1}$) operado em bateladas seqüenciais e contendo biomassa imobilizada (SBBR) em PU demonstrou ser viável para o emprego do processo biológico de oxidação parcial do sulfeto a enxofre elementar. É possível recuperar enxofre do efluente desses reatores por sedimentação em unidades posteriores adequadamente projetadas.

7 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS ENVOLVENDO O PROCESSO DE BIODISSULFURIZAÇÃO (REMOÇÃO DE SULFATO E SULFETO)

- I. Estudar o fenômeno de transferência de massa visando melhorar o transporte de sulfato para o interior das células em reatores com células imobilizadas em suportes inertes ou auto-imobilizadas em grânulos.
- II. Avaliar o efeito da toxicidade do íon acetato (HCOO^-) sobre as BRS a fim de se estabelecer limites de concentração desse íon em reatores sulfetogênicos.
- III. Estudar o processo de redução de sulfato em ASBBR utilizando uma mistura de H_2/CO_2 como doadores de elétrons e fonte de carbono para casos de águas residuárias com valores de relação $\text{DQO}/[\text{SO}_4^{2-}]$ inferiores a 0,67.
- IV. Avaliar a comunidade microbiana em reator aeróbio operado em bateladas seqüenciais com a finalidade de confirmar a presença de microrganismos que utilizam sulfeto e excretam enxofre elementar sob concentrações de oxigênio dissolvido igual ou inferiores a $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$.
- V. Avaliar a aplicabilidade industrial do enxofre elementar produzido biologicamente.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMSON, A.W. (1990). Physical Chemistry of Surfaces, 5th edition. A Wiley-Interscience publication.
- AMANN, R. I.; BINDER, B. G.; OLSON, R. J.; CHRISHOLM, S. W.; DEVEREUX, R.; STAHL, D. A. (1990). Combination of 16S rRNA-target oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. *Applied Environmental Microbiology* 56, p. 1919 – 1925.
- APHA; AWWA; WPCF (1998) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 18th Edition, American Public Health Association, Whashington.
- ARAÚJO, J. C. (1995). Caracterização e evolução do biofilme em reator anaeróbio de leito fluidificado alimentado com esgoto sanitário sintético. Dissertação de Mestrado – SHS-EESC-USP, São Carlos, SP.
- CADAVID, D. L.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. (1999). Performance of horizontal – flow anaerobic immobilized sludge (HAIS) reactor treating synthetic substrate subjected to decreasing COD to sulfate ratios. *Water Science and Technology* 39 (10-11), p. 99-106.
- CALLADO, N. H. (1992). Estudo da toxicidade do sulfato em reator anaeróbio de manta de lodo (UASB). Dissertação de Mestrado – SHS-EESC-USP, São Carlos, SP.
- CAMPOS, J. R. (1990). Proyecto y operación de filtros anerobios para tratamiento de efluentes líquidos industriales. Taller Regional y Conferencia sobre Tratamiento Anaeróbio de Aguas Residuales em América Latina. Ciudad Del México.
- CENTRO DE DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA E CULTURAL (CDCC). Enxofre. www.cdcc.sc.usp.br/elementos/enxofre.html.
- COLLERAN, E.; FINNEGAN, S.; LENS, P. (1995). Anaerobic treatment of sulphate-containing waste streams. *Antonie van Leeuwenboek* 67, p. 24-46.

- CYBIS, I. F.; PICKBRENNER K.; ARIMA, G. (2002). Inibição de processo aeróbio por sulfetos. Anais: XXVIII Congresso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Cancun, México, 27 al 31 de octubre, 2002.
- CUBAS, S.A. (2004) Influência do tamanho da biopartícula no desempenho de reatores anaeróbios em batelada contendo biomassa imobilizada para tratamento de águas residuárias. Tese de Doutorado – SHS-EESC-USP, São Carlos, SP.
- CUBAS, S. A.; Foresti, E.; Rodrigues, J.A.D.; Ratusznei, S.M.; Zaiat, M. (2004). Influence of liquid-phase mass transfer on the performance of a stirred anaerobic sequencing batch reactor containing immobilized biomass. *Biochemical Engineering Journal Amsterdam* 17, p. 99-105.
- DAGUE, R. R.; HABBEN, C. E.; PIDAPARTI, S. R. (1992). Initial studies on the anaerobic sequencing batch reactor. *Water Science and Technology* 26 (9-11), p. 2429-2432.
- DEBASTIANI W.G. (2002). Resolução numérica utilizando o método Runge-Kutta 4 em Microsoft Excel® - www.geocities.com/giorgiodebastiani.
- DEPARTAMENTO NACIONAL DE PRODUÇÃO MINERAL, DNPM (2004). Enxofre. Sumário Mineral 22^a edição. www.dnpm.gov.br.
- DILALLO, R.; ALBERTSON, E. (1961). Volatile acids by direct titration. *Journal WPCF* 33, p. 356-365.
- DOMINGUES, M. R. (2002). Avaliação da metanogenese e sulfetogenese em reatores anaeróbios em batelada e de leito fixo, sob condições termofílicas. Dissertação de Mestrado – SHS-EESC-USP, São Carlos, SP.
- DUGBA P. N.; ZHANG, R. (1999). Treatment of dairy wastewater with two-stage anaerobic sequencing batch reactor systems – thermophilic versus mesophilic operations. *Bioresource Technology* 68, p. 225 – 233.
- FUTIWAKI L.; VARESCHE, M.B.; SILVA, E.L. (2004). Estudo da cinética de conversão de sulfeto a enxofre utilizando a sulfobactéria púrpura *Chromatium vinosum* DSM 183. III Seminário do Projeto Temático: “Desenvolvimento, Análise, Aprimoramento e Otimização de Reatores Anaeróbios para Tratamento de Águas Residuárias”. Escola de Engenharia de Mauá, São Caetano do Sul – SP.
- HANSEN, T. A. (1994). Metabolism of sulfate-reducing prokaryotes. *Antonie van Leeuwenhoek* 66, p. 165-185.

- HARADA, H.; UEMURA, S.; MOMONOI, K. (1994). Interaction between sulfate reducing bacteria and methane producing bacteria in UASB reactors fed with low strength wastes containing different levels of sulfate. *Water Research* 28 (2), p. 355-367.
- HIRASAWA, J. S. (2003). Avaliação da comunidade microbiana anaeróbia em reator sulfetogênico utilizando a hibridação *in situ* com sondas fluorescentes. Dissertação de Mestrado, SHS-EESC-USP, São Carlos, SP.
- HOLT, JOHN G. (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 9 edition. Baltimore : Williams & Williams.
- ISA, Z., GRUSENMEYER, S.; VERSTRAETE, W. (1986a). Sulfate reduction relative to methane production in high-rate anaerobic digestion: Technical aspects. *Applied and Environmental Microbiology*, p. 572-579.
- ISA, Z., GRUSENMEYER, S.; VERSTRAETE, W. (1986b). Sulfate reduction relative to methane production in high-rate anaerobic digestion: Microbiological Aspects. *Applied and Environmental Microbiology*, p. 580-587.
- JANSEN, A. J. H.; LETTINGA, G.; KEIZER, A. DE (1999). Removal of hydrogen sulphide from wastewater and waste gases by biological conversion to elemental sulphur - colloidal and interfacial aspects of biologically produced sulphur particles. *Colloids and Surfaces, A: Physicochemical and Engineering Aspects* 151, pp. 389-397.
- LANGE A. N. (1978). *Handbook of chemistry* 12. ed. New York : Macgraw-Hill.
- LAWRENCE, A.W.; MCCARTY, P.L. (1966). The effects of sulfides on anaerobic treatment. *Air and Water Pollut Int J.* 10, p. 207—221.
- LENS, P. N. L.; VISSER A.; JANSSEN, A. J. H; HULSHOFF POL, L. W; LETTINGA G. (1998). Biotechnological treatment of sulfate-rich wastewaters. *Critical Reviews in Environmental science and technology* 28 (1), p. 41-88.
- LENS P. N. L.; SIPMA, J.; HULSHOFF POL, L. W.; LETTINGA G. (2000). Effect of nitrate on acetate degradation in a sulfidogenic staged reactor. *Water Research* 34 (1), p. 31 - 42.
- LEVENSPIEL, O. (1999). *Engenharia das Reações Químicas*. Editora Edgard Blücher Ltda.

- LY, Y. Y.; LAM, S.; FANG, H. H. P. (1995). Interactions between methanogenic sulfate-reducing and syntrophic acetogenic bacteria in the anaerobic degradation of benzoate. *Water Research* 30 (7), p. 1555 – 1562.
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. (1997). *Brook biology of microorganisms*. Prentice-Hall Inc.
- MAILLACHERUVU, K. Y.; PARKIN, G. F.; PENG, C. Y.; KUO, W.; OONGE, Z. I.; LEBDUSCHKA V. (1993). Sulfide toxicity in anaerobic systems fed sulfate and various organics. *Water Environment Research* 65 (2), p. 100 – 109.
- MAILLACHERUVU, K. Y.; PARKIN, G. F. (1996). Kinetics of growth, substrate utilization and sulfide toxicity for propionate, acetate, and hydrogen utilizers in anaerobic systems. *Water Environment Research* 68 (7), p. 1.099 – 1.106.
- MANZ, W.; AMANN, R.; LUDWIG, W.; WAGNER, M.; SCHLEIFER, K. (1992). Phylogenetic oligodeoxynucleotide probe for the major subclasses of Proteobacteria: problems and solutions. *Systematic Applied Microbiology* 15, p. 593 – 600.
- METCALF & EDDY (1991). *Wastewater Engineering – Treatment, Disposal and Reuse*. McGraw-Hill International Editions, Civil Engineering Series.
- MUÑOZ, M. A.; SANCHEZ, J. M.; RODRIGUEZ-MAROTO, J. M.; BORREGO, J. J.; MORIÑIGO, A. M. (1997). Methane production in anaerobic sludges supplemented with two support materials and different levels of acetate and sulphate. *Water Research* 31 (5), p. 1236-1242.
- MIZUNO, O.; LI, Y., Y.; NOIKE, T. (1994). Effects of sulfate concentration and sludge retention time on the interactions between methane production and sulfate reduction for butyrate. *Water Science and Technology* 30 (8), p. 45 – 54.
- MIZUNO, O.; LI, Y., Y.; NOIKE, T. (1998). The behavior of sulfate-reducing bacteria in acidogenic phase of anaerobic digestion. *Water Research* 32 (5), p. 1626-1634.
- MORAES, E. M.; ADORNO, M. A. T.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. (2000). Determinação de ácidos voláteis por cromatografia gasosa em efluentes de reatores anaeróbios tratando resíduos líquidos e sólidos. *Anais, Vol. II da Oficina e Seminário Latino Americano sobre Digestão Anaeróbia, Recife/Pe*.

- NATION, L. L. (1983). A new method using hexamethyldisilazane for preparation of soft tissues for scanning electron microscopy. *Stain Technology* 58, p. 347-351.
- O'FLAHERTY, V.; COLOHAN, S.; MULKERRINS, D.; COLLERAN, E. (1999). Effect of sulphate addition on volatile fatty acid and ethanol degradation in an anaerobic hybrid reactor. II: microbial interactions and toxic effects. *Bioresource Technology* 68, p. 109-120.
- OMIL, F.; LENS, P.; POL HULSHOFF, W.; LETTINGA (1997). Characterization of biomass from a sulfidogenic, volatile fatty acid-degrading granular sludge reactor. *Enzyme and Microbial Technology* 20, p. 229 – 236.
- ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS (1992). Declaração universal dos direitos da água. <http://www.uniagua.org.br>. Consulta realizada em janeiro/2005.
- PASSIG, F. H. (1997). Estudo do desenvolvimento do biofilme e dos grânulos formados no filtro biológico anaeróbio. Dissertação de Mestrado - SHS-EESC-USP, São Carlos, SP.
- PAULA JR., D. R. DE (1992). Toxicidade em reatores anaeróbios de manta de lodo (UASB): efeitos do aumento progressivo na concentração inicial de sulfeto. Tese de Doutorado, SHS-EESC-USP, São Carlos, SP.
- PEREZ RODRIGUEZ, J.L.; M.I. CARRETERO; C. MAQUEDA (1989). Behaviour of sepiolite, vermiculite and montmorillonite as supports in anaerobic digesters. *Applied Clay Science* 4, p. 69-82.
- PETHICA B. (2000). Microbial and cell adhesion. In: Berkeley R. C. W. *et al.* Microbial adhesion to surfaces. London. Society of chemical industry. Cap. 1, p. 19-45.
- PICANÇO, A. P; VALLERO, M. V. G.; GIANOTTI, E. P.; ZAIAT, M.; BLUNDI, C.E. (2001). Influence of porosity and composition of supports on the methanogenic biofilm characteristics developed in a fixed bed anaerobic reactor. *Water Science and Technology* 44(4), p. 197-204.
- RASKIN, L.; STROMLEY, J. M.; RITTMAN, B. E.; STAHL, D. A. (1994). Group specific 16S rRNA hybridization probes to describe natural communities of methanogens. *Applied Environmental Microbiology* 60, p. 1232 – 1240.
- RATUSZNEI, S. M., RODRIGUES, J. A. D., CAMARGO, E. F. .M, ZAIAT, M., BORZANI, W. (2000). Feasibility of a Stirred Anaerobic Sequencing Batch

- Reactor COntaining Immobilized Biomass for Wastewater Treatment. *Bioresource Technology* 75(2), p. 127-132.
- RIBEIRO, R. (2001). Influência do tipo de substrato na dinâmica de formação do biofilme em matrizes de espuma de poliuretano. Dissertação de Mestrado, SHS-EESC-USP, São Carlos, SP.
- RYPLEY, L. E.; BOYLE, W. C.; CONVERSE, J. C. (1986). Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. *Journal of Water Pollution Control Federation* 58, p. 406-411.
- SAKAMOTO, I. K. (1996). Comportamento do consórcio microbiano existente em um lodo anaeróbio granulado metanogênico, submetido a adições crescentes de sulfato. Dissertação de Mestrado – SHS-EESC–USP, São Carlos, SP.
- SCHMIT C. G.; DAGUE, R. R. (1993). Anaerobic sequencing batch reactor treatment of swine wastes at 20°C, 25°C, e 35°C. 48th Purdue Industrial Waste Conference Proceedings. Lewis Publishers, USA.
- SILVA, A. J. DA (1999). Remoção de sulfato de água residuária industrial utilizando reator anaeróbio de leito fixo. Dissertação de Mestrado – SHS-EESC-USP, São Carlos.
- SILVA, A. J.; VARESCHE, M. B.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. (2002). Sulphate removal from industrial wastewater using a packed-bed anaerobic reactor. *Process Biochemistry* 37(9), p. 927-935.
- SMUL, A. de; J. GROOTAERD, D. L. G. H.; VERSTRAETE, W. (1997). High rates of microbial sulphate reduction in a mesophilic ethanol-fed expanded-granular-sludge-blanket reactor. *Appl Microbiol Biotechnol* 48, p. 297-303.
- SPEECE R. E. (1983). Anaerobic biotechnology for industrial Wastewaters. *Environment Science technology* 17(9), p. 416A-427A.
- SPEECE R. E. (1996). Anaerobic biotechnology for industrial Wastewaters. Aarchae Press.
- STAMS, ALFONS J. M. (1994). Metabolic interactions between anaerobic bacteria in methanogenic environments. *Antonie van Leeuwenhoek* 66, p. 271-294.
- TIMUR, H.; ÖZTURK, I. (1999). Anaerobic sequencing batch reactor treatment of landfill leachate. *Water Research* 11 (15), p. 3225 – 3230.

- TOMMASO, G. (1999). Estrutura, caracterização e cinética de lodo anaeróbio imobilizado em espuma de poliuretano tratando substrato sintético. Dissertação de Mestrado, SHS-EESC-USP, São Carlos, SP.
- TORRES, P. (1992). Desempenho de um reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) de bancada no tratamento de substrato sintético simulando esgoto sanitário sob diferentes condições de operação. Dissertação de Mestrado – SHS-EESC-USP, São Carlos.
- VAZOLLER, R. F.; MONTENEGRO, M. A. P; CALLADO, N. H; FORESTI, E. (1996). Uma proposta para o metabolismo do sulfato em um biodigestor anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo, operado com glicose, acetato e metanol. 11^o Simpósio Nacional de Fermentações, São Carlos.
- VELA, F. J.; ZAIAT M.; FORESTI E. (2002). Influence of the COD to sulphate ratio on the anaerobic organic matter degradation Kinetics. *Water AS* 28 (2), p. 213-216.
- VERRIER D.; MORTIER B., ALBAGNAC, G. (1988) Initial adhesion of methanogenic bacteria to polymers. *Biotechnology Letters* 9(10), p. 735 - 740.
- VISSER, A.; HULSHOFF POL; LETTINGA, G. (1996). Competition of methanogenic and sulfidogenic bacteria. *Water Science and Technology* 33 (3), p. 99-110.
- WIRTZ, R. A.; DAGUE, R. R.; (1997). Laboratory studies on enhancement of granulation in the anaerobic sequencing batch reactor. *Water Science and Technology* 36 (4), p. 279 – 286.
- ZAIAT, M.; CABRAL, A.K.A.; FORESTI, E. (1994). Reator anaeróbio horizontal de leito fixo para tratamento de águas residuárias: concepção e avaliação preliminar de desempenho. *Revista Brasileira de Engenharia – Caderno de Engenharia Química* 11 (2), p. 33-42.
- ZAIAT, M.; RODRIGUES, J. A. D.; RATUZNEI, S. M. (2001). Anaerobic sequencing batch reactors for wastewater treatment: a developing technology. *Applied Microbiology Biotechnology* 55, p. 29 – 35.