UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO – USP
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS – EESC
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA HIDRÁULICA E SANEAMENTO – SHS
LABORATÓRIO DE PROCESSOS BIOLÓGICOS – LPB

ROGERIO SILVEIRA VILELA

**Remoção de matéria orgânica de águas residuárias com elevada
concentração de sulfato pelas vias sulfetogênica e metanogênica combinadas**

VERSÃO CORRIGIDA
SÃO CARLOS
2012

ROGERIO SILVEIRA VILELA

**Remoção de matéria orgânica de águas residuárias com elevada
concentração de sulfato pelas vias sulfetogênica e metanogênica combinadas**

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências, Programa de Engenharia Hidráulica e Saneamento.

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Helena Rissato Zamariolli Damianovic

VERSÃO CORRIGIDA
SÃO CARLOS
2012

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

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

V699r Vilela, Rogerio Silveira
Remoção de matéria orgânica de águas residuárias com elevada concentração de sulfato pela vias sulfetogênica e metanogênica combinadas. / Rogerio Silveira Vilela; orientadora Márcia Helena Rissato Zamariolli Damianovic. São Carlos, 2012.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação e Área de Concentração em Hidráulica e Saneamento -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2012.

1. Tratamento biológico. 2. Reator anaeróbio. 3. Sulfetogênese. 4. Metanogênese. 5. Relação DQO/sulfato. 6. Tecnologia anaeróbia. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Licenciado **ROGERIO SILVEIRA VILELA**.

Título da dissertação: "Remoção de matéria orgânica de águas residuárias com elevada concentração de sulfato pelas vias sulfetogênica e metanogênica combinadas".

Data da defesa: 28/09/2012

Comissão Julgadora:

Resultado:

Profa Dra. **Márcia Helena Rissato Zamariolli Damianovic** (Orientadora)
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

aprovado

Prof. Titular **Eugenio Foresti**
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

aprovado

Prof. Dr. **Arioaldo José da Silva**
(Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP)

Aprovado

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento:
Prof. Titular **Edson Cezar Wendland**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:
Prof. Titular **Denis Vinicius Coury**

*Aos meus pais Oraci e Terezinha
e à minha Tia Aparecida, por
tudo o que passaram e fizeram,
dedico.*

AGRADECIMENTOS

Ao arquiteto do mundo, grande senhor nosso Deus por me guiar.

Ao povo do estado de São Paulo pelo financiamento dos meus estudos.

À Universidade de São Paulo (USP), Escola de Engenharia de São Carlos (EESC), Departamento de Engenharia Hidráulica e Saneamento (SHS) e ao Laboratório de Processos Biológicos (LPB), pela estrutura disponibilizada para a elaboração e conclusão deste trabalho.

À minha orientadora professora Dra. Márcia Damianovic, pela competência, dedicação, atenção, paciência, carinho e principalmente pela amizade.

Ao professor Comendador Dr. Eugenio Foresti pelas aulas ministradas tanto em disciplinas quanto em conversas e conselhos que foram base para esse estudo e outros que ainda virão.

À FAPESP pelo auxílio financeiro para pesquisa e ao CNPq pela bolsa de estudos concedida durante o mestrado.

Ao coordenador do PPG-SHS professor Dr. Edson Wendland.

À Dra. Isabel Sakamoto e Dra. Eloisa Pozzi, pelas contribuições nas análises biológicas.

À Maria Ângela Tallarico e a Inês pela ajuda nas análises cromatográficas.

Ao Dr. Gustavo Mockaitis, pelos conselhos.

A todos os amigos do LPB que contribuíram e ajudaram na parte experimental do trabalho, principalmente, Priscila Camilloti, Thiago Paladino, Ricardo Almeida, Rafael Belisário, Carolina Zampol, Juliana Kawanishi, Fabrício Motteran, Adriana Maluf, Tiago Martins, Eduardo Penteado, Bruna Moraes e Rafael Moura.

Aos funcionários do LPB/SHS/EESC/USP, especialmente, Pavi, Rose e Sá.

Aos amigos da pós-graduação, Samuel Aquino, Livia Botta, Bruno Pessoto, Filipe Vasconcelos, Lucas Marcon, Adis Ivonne, Rudner Sapla, Vinícius Carvalho, Victor Assunção, Paulo Rogério, Mara Silva, Ivie Emi, Uirá Deák, Lênin Silva, Djalma Ferraz, Guilherme Barbosa, Guilherme Laurentis, Davi Lóio, Caio Pires, entre outros.

Aos amigos da “Rep Pulêro”, Alessandro, Chung, Kauê, Nelson, Rodney, Sassinha e Vinícius que conviveram comigo e que proporcionaram muitos momentos “sem noção” na república.

Às professoras Nelci, Odila e Mara, pela ajuda durante a graduação e pelo encorajamento para a pós-graduação.

Aos amigos da Rio Grande Engenharia Ambiental, Anderson, Geraldo, Louize, Marcelo, Monique, Tairone e Wellington.

Aos amigos de Passos, não citarei nomes para não ser injusto e esquecer algum.

Ao meu irmão Rodrigo.

À minha família por estar sempre ao meu lado, especialmente ao Tio Dominginho, Tia Nilma e Sandra.

...e finalmente a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho...

...MUITO OBRIGADO!!!

*“É no junto dos bão
que a gente aprende o mió”*

João Guimarães Rosa (1908-1967)

RESUMO

VILELA, R.S. (2012) **Remoção de matéria orgânica de águas residuárias com elevada concentração de sulfato pelas vias sulfetogênica e metanogênica combinadas**. 120p. Dissertação (Mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos – Universidade de São Paulo.

A utilização da tecnologia anaeróbia para tratamento de águas residuárias contendo sulfato foi considerada inadequada até o final da década de 1980, principalmente pela geração de odor desagradável, potencial corrosivo e pela instabilidade causada aos organismos envolvidos no processo de degradação de matéria orgânica. Entretanto, a remoção simultânea e estável de matéria orgânica e sulfato observado em reatores anaeróbios tem incentivado estudos para compreensão e controle do processo. No entanto, ainda existem lacunas sobre a interação das rotas metabólicas para remoção de matéria orgânica e sulfato combinadamente. Diante dessa problemática este estudo teve como objetivo avaliar a remoção de matéria orgânica e redução de sulfato presentes em água residuária sintética pelas vias metanogênica e sulfetogênica combinadas em um reator anaeróbio horizontal de leito fixo com biomassa imobilizada, operado por longo período de tempo, utilizando o etanol como doador de elétrons. Seis fases distintas com diferentes concentrações de sulfato e valor fixo de concentração de matéria orgânica foram adotadas, diminuindo gradativamente a relação DQO/sulfato. O desempenho do reator foi acompanhado por análises físico química do afluente e efluente. A cada troca de fase procedeu-se perfil de concentrações de DQO, sulfato e sulfeto ao longo do reator. Os resultados apontaram que as variações da concentração de sulfato e da relação DQO/sulfato impostas, acarretaram diferenças no desempenho do reator. A degradação da matéria orgânica e remoção de sulfato foram mais eficientes (95,7% e 93,6%, respectivamente) quando a relação DQO/sulfato esteve entre 3 e 1,8. A alta eficiência do reator na remoção de DQO e redução sulfato foram associadas ao sintrofismo e sinergia dos organismos envolvidos na degradação simultânea de DQO e sulfato. A avaliação de relações DQO/sulfato variando de 0,75 a 12,5, ou seja, abaixo e acima das estequiometricamente, evidenciou que as relações de 12,5 e 7,5 favoreceram a metanogênese, enquanto para relações iguais ou menores que 1,0, a sulfetogênese foi uma via importante para remoção de matéria orgânica, durante a redução do sulfato a sulfeto. Durante as fases com DQO/sulfato menor que 1,0, a sulfetogênese foi mantida com eficiência acima de 40%.

Palavras-chave: Tratamento biológico. Reator anaeróbio. Sulfetogênese. Metanogênese. Processos anaeróbios combinados. Relação DQO/sulfato.

ABSTRACT

VILELA, R.S. (2012) **Organic matter removal from wastewater with high sulphate concentration by sulphidogenic and methanogenic combined pathways**. 120p. Master of Science Degree Thesis. São Carlos School of Engineering – University of São Paulo.

Recently (15 – 10 years ago) the simultaneous and stable organic matter removal and biological sulphate reduction from sulphate-rich wastewater in anaerobic reactors has been observed, encouraging studies for understanding and process control. There are gaps on the knowledge of reactors treating wastewater with different COD/sulphate ratio, combining organic matter removal and biological sulphate reduction. This study aimed to evaluate the simultaneous organic matter removal and biological sulphate reduction present in synthetic wastewater by methanogenic and sulphidogenic combined pathways in a horizontal-flow anaerobic immobilized biomass reactor, operated for a long-term, using the ethanol as electron donor. Six distinct stages were used, with fixed organic matter concentration and different sulphate concentration, gradually decreasing COD/sulphate ratio. The stages 1 and 2 were stages of adaptation to sulphidogenic and the stages 3, 4, 5 and 6 were operation reactor stages. The reactor performance was observed by physical and chemical assays of influent and effluent parameters like pH, sulphate, COD and total alkalinity, sulphide and organic volatile acids only in the effluent. In addition the biological MPN technique was used for the inoculum and final stage for the reactor operation to estimate the number of organisms cells involved in the degradation of the compounds. Profile concentrations of COD, sulphate and sulphide along the reactor were taken. The results has been indicated that imposed variations sulphate concentration and the COD/sulphate ratio, results in difference reactor performance. The organic matter removal by methanogenic and sulphidogenic combined pathways (associated biological sulphate reduction) was efficient (95.7% e 93.6%, respectively) when COD/sulphate ratio was between 3 and 1.8. These high efficiencies obtained for sulphate reduction and organic matter removal at different COD/sulphate ratios were attributed to the intense syntrophism and synergy between to organisms involved in the organic matter removal and biological sulphate reduction. The analyses of the COD/sulphate ratio from 0.75-12.5, below and above the stoichiometrically determined for the degradation of the organic matter in a sulphidogenic pathway, pointed that highest removal efficiency of sulphate was obtained when the COD/sulphate ratio was close to 3. During the stage with COD/sulphate ratio less than 1.0, the sulphidogenesis was maintained with efficiency above 40%.

Keywords: Biologic treatment. Anaerobic reactor. Sulphidogenesis. Methanogenesis. COD/sulphate ratio. Anaerobic technology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Interação entre as vias metanogênica e sulfetogênica na degradação de matéria orgânica em águas residuárias ricas em sulfato a) via sulfetogênica b) via metanogênica	33
Figura 2 – Esquema RAHLF em escala de bancada	46
Figura 3 – Representação esquemática simplificada do tratamento anaeróbio de remoção de matéria orgânica e redução de sulfato pelas vias metanogênica e sulfetogênica combinadas em reator anaeróbio horizontal de leito fixo.....	49
Figura 4 – Constante de equilíbrio para as diferentes formas de sulfeto em relação ao pH.....	52
Figura 5 – Gráfico da estatística descritiva da concentração de matéria orgânica afluenta	56
Figura 6 – Concentrações de matéria orgânica (DQO) no afluenta e efluente durante o período experimental	57
Figura 7 – Gráfico da estatística descritiva da eficiência da remoção de matéria orgânica	58
Figura 8 – Média das concentrações de DQO aplicadas e removidas e porcentagem média da eficiência de remoção	58
Figura 9 – Valores médios da eficiência de remoção de DQO comparada com a média dos valores da relação DQO/sulfato ao longo do período operacional.....	60
Figura 10 – Gráfico da estatística descritiva da concentração de sulfato afluenta	62
Figura 11 – Concentrações pontuais de sulfato afluenta (AF), efluente (EF) e sulfato removido (SR = AF-EF)	62
Figura 12 – Gráfico da estatística descritiva da eficiência da redução de sulfato	63
Figura 13 – Média da eficiência de redução de sulfato em comparação com a relação DQO/sulfato nas fases de operação do reator.....	64
Figura 14 – Eficiência de redução de sulfato em relação à taxa aplicada de DQO/sulfato com faixa de ótimo de redução.....	65
Figura 15 – Comparação entre a relação DQO/sulfato com as eficiências de remoção de matéria orgânica e redução de sulfato	66
Figura 16 – Média da eficiência de remoção de matéria orgânica e redução de sulfato relacionada com a produção média de sulfeto biogênico	67
Figura 17 – Gráfico da estatística descritiva da geração de sulfeto de hidrogênio produzido biogenicamente	68

Figura 18 – Média das concentrações de sulfato (afluente e efluente) e geração do sulfeto produzido biogenicamente pela redução do sulfato	69
Figura 19 – Eficiências de remoção e geração de sulfeto biogênico a) média da eficiência de redução de sulfato b) média de eficiência de remoção de DQO	69
Figura 20 – Determinação do potencial Hidrogeniônico do reator no afluente e efluente durante as fases experimentais	72
Figura 21 – Resultados de alcalinidade a) alcalinidade parcial e intermediária (afluente e efluente) b) relação AI/AP	74
Figura 22 – Análise estatística de <i>boxplot</i> de ácido acético gerado pela conversão do etanol	75
Figura 23 – <i>Boxplot</i> dos dados obtidos na degradação de matéria orgânica e sulfato pelas vias metanogênica e sulfetogênica combinadas e a geração de sulfeto de hidrogênio biogênico no reator anaeróbio (DQO: mg O ₂ .L ⁻¹ ; Sulfato: mg SO ₄ ²⁻ .L ⁻¹ ; Sulfeto: mg H ₂ S.L ⁻¹)	77
Figura 24 – Perfil de concentrações do reator anaeróbio a) Fase 2, b) Fase 3, c) Fase 4, d) Fase 5, e) Fase 6	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Comparação entre alguns reatores anaeróbios relatados na literatura e as suas eficiências de remoção e redução dos compostos	42
Tabela 2 – Composição da água residuária sintética usada no experimento	47
Tabela 3 – Condições operacionais aplicadas ao experimento com o RAHLF.....	48
Tabela 4 – Concentração em termos de DQO dos ácidos orgânicos analisados	51
Tabela 5 – Testes analíticos realizados para avaliação do RAHLF	53
Tabela 6 – Testes analíticos realizados no perfil de concentração operacional do RAHLF	54
Tabela 7 – Variáveis das condições operacionais do reator	55
Tabela 8 – Estatística descritiva da concentração de matéria orgânica aplicada.....	56
Tabela 9 – Estatística descritiva da concentração de matéria orgânica removida.....	57
Tabela 10 – Concentração de matéria orgânica (DQO) no afluente e efluente do reator.....	59
Tabela 11 – Eficiências de remoção médias de DQO	60
Tabela 12 – Estatística descritiva da concentração de sulfato afluente	61
Tabela 13 – Estatística descritiva da concentração de sulfato reduzida	63
Tabela 14 – Estatística descritiva da concentração de sulfeto produzido biogenicamente	68
Tabela 15 – Resultados obtidos para estimativa de organismos nas amostras por NMP	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS

°C – graus Celsius

AI – alcalinidade intermediária

AM – arqueias metanogênicas

AP – alcalinidade parcial

AI/AP – relação entre alcalinidade intermediária e alcalinidade parcial

BRS – bactérias redutoras de sulfato

Cd^{2+} – cádmio

cm – centímetros

Cu^{2+} – cobre

DQO – demanda química de oxigênio

DQO/sulfato – relação demanda química de oxigênio por sulfato

g – gramas

g.h^{-1} – gramas por hora

g.L^{-1} – gramas por litro

g/cm^3 – gramas por centímetro cúbico

H_2S – sulfeto de hidrogênio (fase líquida)

HS^- – sulfeto de hidrogênio (fase gasosa)

kg.kg^{-1} – quilograma por quilograma dia

$\text{kg m}^3.\text{dia}^{-1}$ – quilograma metro cúbico por dia

L.min^{-1} – litros por minuto

m^3 – metros cúbicos

$\text{m}^3.\text{dia}^{-1}$ – metros cúbicos por dia

$\text{mg CaCO}_3.\text{L}^{-1}$ – miligramas de carbonato de cálcio por litro

$\text{mg H}_2\text{S}.\text{L}^{-1}$ – miligramas de sulfeto de hidrogênio por litro

$\text{mg O}_2.\text{L}^{-1}$ – miligramas de oxigênio por litro

$\text{mg SO}_4^{2-}.\text{L}^{-1}$ – miligramas de íon sulfato por litro

mg.L^{-1} – miligramas por litro

ml – mililitros

ml.hora^{-1} – mililitros por hora

ml.L^{-1} – mililitros por litro

mm – milímetros

Na_2SO_4 – sulfato de sódio

NaOH – hidróxido de sódio

$\text{NMP} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$ – número mais provável por cem mililitros

pH – potencial Hidrogeniônico

pKa – log base 10 da constante do ácido

RAHLF – reator anaeróbio horizontal de leito fixo

S^- – íon sulfeto

SO_4^{2-} – íon sulfato

TDH – tempo de detenção hidráulica

UASB – *upflow anaerobic sludge blanket reactor* (reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	23
2 OBJETIVOS	25
2.1 Objetivo principal	25
2.2 Objetivos auxiliares	25
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
3.1 Redução de compostos sulfurosos em águas residuárias com conteúdo orgânico	27
3.2 Remoção de matéria orgânica pelas vias metanogênica e sulfetogênica combinadas	30
3.3 Reatores anaeróbios utilizados no tratamento de águas residuárias complexas contendo compostos sulfurosos.....	35
3.4 Considerações finais	43
4 INSTALAÇÕES, TÉCNICAS EXPERIMENTAIS E MÉTODOS ANALÍTICOS.....	45
4.1 Instalações experimentais	45
4.1.1 Aspectos gerais	45
4.1.2 Reator anaeróbio horizontal de leito fixo	45
4.1.2.1 Meio suporte	46
4.1.2.2 Inóculo	46
4.1.3 Condições nutricionais	47
4.1.4 Configuração experimental.....	48
4.1.5 Representação esquemática do tratamento	49
4.2 Métodos analíticos para avaliação da eficiência do reator	49
4.2.1 Análises biológicas	49
4.2.1.1 Análise quantitativa microbiológica.....	49
4.2.2 Análises físico-químicas.....	50
4.2.2.1 Determinação da concentração de sulfato	50
4.2.2.2 Determinação da demanda química de oxigênio	50
4.2.2.3 Determinação de alcalinidade.....	50
4.2.2.4 Determinação da concentração dos ácidos orgânicos.....	51
4.2.2.5 Determinação do potencial Hidrogeniônico	52
4.2.2.6 Determinação da concentração de sulfeto de hidrogênio	52
4.3 Monitoramento da eficiência do reator.....	53
4.4 Métodos estatísticos utilizados para análise dos dados obtidos	54
5 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	55
5.1 Condições operacionais do reator.....	55
5.2 Avaliação do desempenho do reator.....	56
5.2.1 Comportamento do reator em relação à matéria orgânica.....	56
5.2.2 Comportamento do reator em relação ao sulfato.....	61
5.2.3 Remoção combinada de matéria orgânica e redução sulfato.....	65
5.2.4 Perfil espacial de concentrações no reator.....	78

6 CONCLUSÕES	83
7 SUGESTÕES	85
REFERÊNCIAS	87
APÊNDICE A – ANÁLISE FÍSICO QUÍMICA	95
APÊNDICE B – ANÁLISE FÍSICO QUÍMICA - PERFIL	101
APÊNDICE C – ANÁLISE CROMATOGRÁFICA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA DE ÁCIDOS ORGÂNICOS	103
APÊNDICE D – ANÁLISE ESTATÍSTICA BOXPLOT DOS ÁCIDOS.....	107
APÊNDICE E – ANÁLISE ESTATÍSTICA BOXPLOT FÍSICO QUÍMICA	111
APÊNDICE F – ANÁLISE ESTATÍSTICA DESCRITIVA	115
APÊNDICE G – ANALÍSE QUANTITATIVA MICROBIOLÓGICA DE NÚMERO MAIS PROVÁVEL (NMP).....	119

1 INTRODUÇÃO

Diversas atividades industriais geram águas residuárias contendo sulfato. Estas águas residuárias contêm concentrações de sulfato variáveis conforme o processo produtivo utilizado, além de outros compostos sulfurosos. A presença de sulfato nas águas residuárias industriais é devida, por exemplo, à utilização de ácido sulfúrico para ajuste de pH e ao uso de sulfato de cálcio para recuperação de ácido cítrico e tartárico nas indústrias alimentícias e de bebidas. Compostos de enxofre também são utilizados como agentes branqueadores nas indústrias de papel e celulose. A vinhaça gerada na produção de açúcar e álcool contém concentrações variáveis de sulfato, na maior parte no intervalo entre 500 a 3.000mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$. Diversas indústrias químicas e petroquímicas nos seus variados processos industriais geram águas residuárias contendo sulfato, que podem atingir concentrações com até 50 g $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ (LENS et al., 1998; SILVA et al., 2002).

Devido à legislação brasileira vigente ser pouco restritiva com respeito a compostos sulfurosos oxidados em águas residuárias, o interesse na remoção está associado, principalmente, aos transtornos causados pela reciclagem da água e aos subprodutos formados quando essas águas passam por ambientes anaeróbios, causando a formação e desprendimento de gás sulfídrico. Dessa forma, a redução de compostos sulfurosos torna-se necessária.

Até recentemente, a utilização da tecnologia anaeróbia para tratamento de águas residuárias orgânicas contendo sulfato era considerada inadequada, principalmente pela geração de odor desagradável e pela instabilidade causada à metanogênese devido à redução do sulfato, resultando na diminuição da produção de metano. Entretanto, a remoção simultânea e estável de matéria orgânica e redução de sulfato em reatores destinados ao tratamento de águas residuárias de conteúdo orgânico e compostos sulfurosos, introduzidos posteriormente à implantação do sistema, tem sido observada. Assim, o interesse pela compreensão e controle do processo anaeróbio para remoção combinada de matéria orgânica e redução de sulfato tem sido buscado, visando à compreensão dos processos envolvidos para futuras proposições de aplicações tecnológicas.

As técnicas anaeróbias de redução de sulfato estão se tornando progressivamente importantes e intensamente estudadas por vários autores como, Buisman et al. (1990), Calkins (1993), Harada et al. (1994), Colleran et al. (1995), Genshow et al. (1996), Lens et al. (1998), Omil et al. (1998), Cadavid et al. (1999), Hulshoff Pol et al. (2001), Lens (2002), Silva et al. (2002), Voussoughi et al. (2003), Weijma et al. (2003), Damianovic et al. (2006), Damianovic

e Foresti (2007), Dar et al. (2007), Muyzer e Stams (2008), Sabumon (2008), Damianovic e Foresti (2009), Sarti e Zaiat (2009), Wang et al. (2009), Bekmezci et al. (2010), Oyekola et al. (2010), Cao et al. (2010), Chaiprapat et al. (2010), Sarti e Zaiat (2011), Silva et al. (2011), Li et al. (2012), Lu et al. (2012), entre outros, devido ao seu potencial e possibilidade de redução de custo econômico operacional em relação às tecnologias atualmente disponíveis.

Neste contexto, o tratamento biológico utilizando Bactérias Redutoras de Sulfato está sendo considerado uma das alternativas mais promissoras no tratamento de vários tipos de águas residuárias industriais complexas enriquecidas com sulfato.

Estudos avançados sobre o processo anaeróbio têm aberto novas e importantes perspectivas, não só para o tratamento das águas residuárias, mas também para a produção de metano, que é uma fonte renovável de energia. Nessa perspectiva, os experimentos com águas residuárias orgânicas enriquecidas com sulfato apresentam-se como ferramentas importantes para esclarecer as interações entre as rotas sulfetogênica e metanogênica na redução de sulfato e remoção de matéria orgânica, auxiliando no entendimento da competição e/ou sinergia entre as biotas envolvidas tanto na remoção dos compostos quanto para a determinação da influência dos fatores ambientais e de composição das águas residuárias associados.

Pesquisas sobre o tratamento de águas residuárias orgânicas com sulfato apontam resultados distintos obtidos por diferentes pesquisadores, que podem ser creditados à influência de vários fatores ambientais e operacionais que direcionam o fluxo de elétrons, favorecendo a atuação das Arquéias Metanogênicas e/ou Bactérias Redutoras de Sulfato nos reatores, que competem por substratos comuns. A cinética do crescimento bacteriano, as propriedades de imobilização dos microrganismos, a difusão do substrato no biofilme microbiano e as condições ambientais, tais como, concentração de sulfeto, temperatura, pH e disponibilidade de elétrons livres são os principais fatores que afetam a eficiência do reator anaeróbio.

Experimentos de curto período de tempo em reatores anaeróbios têm sido realizados com o objetivo de esclarecer alguns dos fatores determinantes sobre os processos metanogênico e sulfetogênico combinados. Nessa perspectiva, este estudo teve como objetivo avaliar a combinação de remoção de matéria orgânica e redução de sulfato em diferentes relações DQO/sulfato, visando contribuir para o entendimento dos processos envolvidos no tratamento anaeróbio de águas residuárias orgânicas contendo sulfato.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo principal

O objetivo principal deste estudo foi avaliar a remoção simultânea de matéria orgânica e redução de sulfato pelas vias metanogênica e sulfetogênica combinadas em um Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo (RAHLF) com biomassa imobilizada, operado por longo período de tempo.

2.2 Objetivos auxiliares

Estabelecer simultaneamente a metanogênese e sulfetogênese em reator anaeróbio horizontal de leito fixo com biomassa imobilizada;

Avaliar a coexistência dos processos metanogênico e sulfetogênico na remoção combinada de matéria orgânica e redução de sulfato para diferentes relações DQO/sulfato;

Avaliar a toxicidade do sulfeto de hidrogênio produzido biogenicamente no processo sulfetogênico.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Redução de compostos sulfurosos em águas residuárias com conteúdo orgânico

O ácido sulfúrico é usado em muitos processos industriais, resultando na ocorrência de sulfato nas suas águas residuárias. Em determinados sistemas anaeróbios de tratamento de efluentes industriais, especialmente quando se vislumbra a recuperação de energia, a redução do sulfato é um processo indesejado uma vez que diminui a produção de metano. Em adição, a redução do sulfato gera sulfeto de hidrogênio que é um agente corrosivo, tóxico e com odor desagradável. Estudos para inibir a sulfetogênese foram realizados no final da década de 90 (MATTORANO; MERINAR, 1999), entretanto o sucesso desejado nos experimentos pelos pesquisadores não foi obtido (MUYZER; STAMS, 2008).

Rinzema e Lettinga (1998) relataram que observações fortuitas sobre a ocorrência concomitante de redução do sulfato e remoção de matéria orgânica em reatores anaeróbios exclusivamente metanogênicos, inspiraram pesquisas sobre a redução anaeróbia de sulfato (sulfetogênese) combinada com a metanogênese na degradação de águas residuárias industriais sulfurosas.

Entre as tecnologias atuais utilizadas na remoção de sulfato de águas residuárias estão à precipitação química ou dessalinização, aplicando osmose reversa ou troca iônica, mas os custos destas tecnologias são relativamente altos, abrindo espaço para proposição de novas alternativas. Recentemente tem se dado atenção especial aos métodos biológicos para a redução de sulfato em águas residuárias orgânicas (SARTI et al., 2009).

As técnicas anaeróbias para tratamento de águas residuárias complexas atualmente estão sendo intensamente estudadas, devido aos seus custos efetivos relativamente mais baixos e por ser considerada ambientalmente segura. Os processos biológicos utilizando Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS) são considerados uma das alternativas mais promissoras para tratar uma grande variedade de águas residuárias complexas, despertando grande interesse econômico, ambiental e biotecnológico (MARTINS et al., 2009).

Os organismos redutores de sulfato são importantes membros da comunidade microbiana, devido à sua versatilidade nas rotas de degradação. As BRS podem ser encontradas nos mais variados ambientes tais como solos, sedimentos e águas residuárias de mineração, industriais e domésticas. Os processos biológicos de redução de sulfato abrem

novas possibilidades para o tratamento anaeróbio de águas residuárias orgânicas ricas em sulfato porque as BRS podem metabolizar vários tipos de substratos de interesse ambiental, atuando também em sintrofia com outros consórcios de microrganismos anaeróbios. A compreensão das interações entre os organismos presentes nos biorreatores é importante para a aplicação de processos biológicos com o objetivo da redução de sulfato de águas residuárias complexas. Além disso, o entendimento das concentrações das substâncias inibitórias que podem afetar o desempenho dos organismos na remoção dos constituintes das águas residuárias complexas é importante para a proposição de estratégias para o controle do processo global (MUYZER; STAMS, 2008).

No tratamento anaeróbio de águas residuárias sulfurosas com baixo conteúdo de matéria orgânica, a completa redução do sulfato pelas BRS requer a adição de doadores de elétrons. No entanto, para manter a competitividade do tratamento anaeróbio frente aos outros meios de redução de sulfato, a adição destes doadores de elétrons deve ter custos relativamente baixos para que o sistema anaeróbio mantenha a vantagem frente às técnicas convencionais (HULSHOFF POL et al., 2001).

Um exemplo de doador de elétrons que nos últimos anos vem sendo amplamente usado no Brasil em pesquisas para redução de sulfato é o etanol, devido ao custo relativamente baixo e a sua fácil manipulação. Entretanto, é preciso estar atento para os produtos gerados no processo de sulfetogênese, que pode incrementar a DQO no efluente dos reatores, requerendo adequação aos padrões de lançamento.

A sulfetogênese realizada por BRS oxidadoras incompletas de substratos com a produção de acetato é mais facilmente estabelecida nos reatores anaeróbios tratando águas residuárias complexas (OMIL et al., 1998; DAMIANOVIC; FORESTI, 2009), requerendo sua combinação com a metanogênese, para a qual o acetato é o principal substrato. A utilização de sistema de tratamento anaeróbio para a remoção simultânea de matéria orgânica e redução de sulfato de águas residuárias é fortemente influenciada pelas características do doador de elétrons, além da razão DQO/sulfato (DAMIANOVIC; FORESTI, 2009). Isto significa que em águas residuárias com relação DQO/sulfato de 0,67, teoricamente existe sulfato suficiente para remover completamente a DQO via sulfetogênese. Caso contrário, para águas residuárias com relação DQO/sulfato maiores do que 0,67, a completa remoção de matéria orgânica somente pode ser alcançada se, além da redução de sulfato, também ocorrer a metanogênese (LENS et al., 1998).

Na presença de sulfato, as bactérias redutoras de sulfato competem com o consórcio de bactérias metanogênicas por substratos como o hidrogênio e o acetato. Devido à maior

afinidade ao hidrogênio, as bactérias redutoras de sulfato facilmente e mais rapidamente superam as metanogênicas hidrogenotróficas e as homoacetogênicas na utilização de hidrogênio. A utilização do acetato pelas BRS também gera competição com as metanogênicas acetoclástica, pois estas utilizam o acetato como substrato para a produção de metano e dióxido de carbono. No entanto, esta competição não é facilmente estabelecida como a competição entre BRS e metanogênicas hidrogenotróficas pelo hidrogênio (MYUZER; STAMS, 2008).

Segundo Muyzer e Stams (2008) em ambientes anaeróbios com baixo potencial redox, as bactérias redutoras de sulfato também competem com outros organismos anaeróbios pela disponibilidade de substrato, tais como o hidrogênio, acetato, propionato, butirato e lactato (equações 1 a 5).

As BRS competem com as arqueias metanogênicas pelo hidrogênio e acetato (equações 6 e 7).

As bactérias redutoras de sulfato também competem com as homoacetogênicas pelo hidrogênio e pelo lactato (equações 8 e 9).

E ainda competem com as bactérias acetogênicas pelo propionato, butirato e lactato (equações 10, 11 e 12).

A presença de sulfato é determinante para o estabelecimento das rotas de degradação da matéria orgânica (MYUZER; STAMS, 2008).

3.2 Remoção de matéria orgânica pelas vias metanogênica e sulfetogênica combinadas

A digestão anaeróbia da matéria orgânica ocorre na ausência de oxigênio, contando com dióxido de carbono, sulfato, nitrato, ferro trivalente ou outro, como aceptores finais de elétrons. Os produtos finais da digestão anaeróbia estão associados ao fluxo de elétrons, sendo o metano, gás carbônico, sulfeto e nitrogênio gasoso, os produtos finais.

De acordo com Mosey (1983) a digestão anaeróbia é um processo autorregulado por meio de diferentes populações microbianas, que interagem na decomposição da matéria orgânica. A digestão anaeróbica é um processo biológico de múltiplas etapas em que substâncias originalmente complexas e de cadeias longas são progressivamente transformadas em compostos orgânicos mais simples por diferentes grupos de bactérias. A degradação anaeróbia de substâncias orgânicas inicia-se pelo processo de hidrólise (equações 13 a 15).

Em seguida ocorre a acetogênese em que são produzidos ácidos orgânicos voláteis (equações 16 a 19).

A principal fração do metano é produzida pela rota do ácido acético por metanogênese acetoclástica (equações 20).

As rotas são estritamente dependentes uma das outras em que cada etapa da digestão anaeróbia é realizada por uma classe específica de microrganismos. Em um sistema de digestão equilibrado, vários processos biológicos de conversão permanecem acoplados para evitar a acumulação de qualquer metabolito intermediário no sistema de tratamento (DHAKED et al., 2010).

A digestão anaeróbia é propensa a quedas no desempenho devido à ocorrência de disfunções ou falhas que o tornam fortemente dependente dos substratos, bem como sobre o ambiente e condições operacionais dos reatores. Este último aspecto pode ser considerado como única variável de controle do processo de tratamento de águas residuárias orgânicas.

A digestão anaeróbia é estabelecida em um reator biológico por meio de reações de oxido-redução, a partir do substrato aplicado, mediadas por microrganismos. Existem diferentes grupos de organismos operando simbioticamente em reatores híbridos tratando águas residuárias orgânicas com diferentes substâncias complexas, como por exemplo, o sulfato. A sintrofia dos diferentes microrganismos aumenta a robustez e eficiência dos sistemas anaeróbios.

A coexistência de diferentes organismos tem sido estudada mais intensamente nos últimos 10-15 anos e os resultados têm mostrado um efeito sinérgico do tratamento combinado de águas residuárias complexas, como aumento da biodegradabilidade. Em particular, a combinação de diferentes substratos, somados com as especialidades fisiológicas dos diferentes organismos presentes nos reatores podem resultar na otimização da degradação anaeróbia (ESPOSITO et al., 2012).

De acordo com Silva et al, (2011) o entendimento das interações entre estes organismos permitem que se faça o efetivo controle das BRS e AM, aumentando significativamente a eficiência dos reatores anaeróbios tratando águas residuárias contendo matéria orgânica e sulfato.

Segundo Muyzer e Stams (2008) a combinação da sulfetogênese com a metanogênese na degradação de DQO apresenta aspectos diferentes da remoção de matéria orgânica em ambientes especificamente metanogênicos. Em contraste com as bactérias redutoras de sulfato, as arqueias metanogênicas usam um número limitado de substrato para crescimento. Quantitativamente o hidrogênio, dióxido de carbono e o acetato são os mais importantes e mais bem conhecidos substratos utilizados pelas arqueias metanogênicas. Até onde a literatura relata, nenhuma arqueia metanogênica tem o seu crescimento descrito utilizando ácidos orgânicos, tais como o lactato, propionato e butirato, substratos comuns às bactérias redutoras de sulfato. Consequentemente, estes compostos são degradados por outros consórcios de bactérias, formando produtos que são utilizados como substratos pelas arqueias metanogênicas. Tipicamente, estas conversões são executadas devido ao sintrofismo entre as comunidades de bactérias acetogênicas e arqueias metanogênicas (Figura 1).

Figura 1 – Interação entre as vias metanogênica e sulfetogênica na degradação de matéria orgânica em águas residuárias ricas em sulfato a) via sulfetogênica b) via metanogênica
Fonte: Adaptado de Muyzer e Stams (2008)

Segundo Hulshoff Pol et al. (2001), em ambientes que o sulfato está presente, as bactérias redutoras de sulfato, poderão competir com o consórcio de bactérias metanogênicas por doadores de elétrons como o Hidrogênio, acetato e metanol. Em comparação com as arqueias metanogênicas, as bactérias redutoras de sulfato são muito mais versáteis. As

arqueias metanogênicas acetoclásticas na presença de compostos como o propionato e o butirato, tem necessidade de manutenção de baixa pressão parcial de hidrogênio para conversão a acetato para posterior utilização dos ácidos como substrato, enquanto as espécies de bactérias redutoras de sulfato podem utilizá-los diretamente, por oxidação completa ou formação de acetato (equações 21, 22 e 23).

As propriedades cinéticas das bactérias redutoras de sulfato, das arqueias metanogênicas e das acetogênicas acetoclásticas podem ser usadas para prever o efeito da competição por substratos em comuns. Na maioria dos ambientes anaeróbios, o hidrogênio está presente como um doador de elétrons intermediário na competição entre as BRS, as arqueias metanogênicas e as homoacetogênicas. Termodinamicamente, as reações de homoacetogênese são menos favoráveis do que a metanogênese e a sulfetogênese. Em ambientes com adição de sulfato, a pressão parcial do hidrogênio torna-se tão baixa que termodinamicamente já não é mais possível encontrar as arqueias metanogênicas hidrogenotróficas (HULSHOFF POL et al., 2001).

Na degradação do propionato e butirato, as bactérias redutoras de sulfato crescem mais rapidamente do que no sintrofismo da degradação do propionato e butirato pela via metanogênica, o que dá vantagem competitiva as bactérias redutoras de sulfato. Do ponto de vista ecológico, é interessante o entendimento como as BRS interagem com as comunidades metanogênicas quando o sulfato que está disponível no ambiente é insuficiente para a oxidação completa dos compostos orgânicos. Nestas estas condições, os grupos de bactérias redutoras de sulfato competirão pela disposição de sulfato, entretanto, poucos estudos têm sido relatados na literatura sobre essa competição (MUYZER; STAMS, 2008).

De acordo com Damianovic e Foresti (2007) a complexa relação existente entre as arqueias metanogênicas e as bactérias redutoras de sulfato, em ambientes anaeróbios, na presença de sulfato tem sido intensamente investigada juntamente com a remoção concomitante de matéria orgânica e redução de sulfato. A utilização de sistema de tratamento

anaeróbio com remoção simultânea de matéria orgânica e redução de sulfato, no entanto, ainda carece de estudos mais aprofundados sobre a competição por doadores de elétrons e a inibição da atividade microbiana na presença de sulfeto. Os autores *op. cit.* referem que dados reportados na literatura, atribuem à especialização dos organismos envolvidos na degradação dos compostos, são influenciados por vários fatores afetando a competição entre eles, tais como, o crescimento cinético, propriedades de imobilização dos organismos, difusão do substrato no biofilme e condições ambientais (concentração de sulfeto, temperatura, pH entre outros). Enfatizam ainda que a escolha correta de reatores aumenta a eficiência dos mesmos.

Em determinadas condições, a eficiência de redução de sulfato e remoção de matéria orgânica é aumentada quando doadores de elétrons comuns a ambos estão presentes nas águas residuárias (DAMIANOVIC; FORESTI, 2009). Os autores relataram o intenso sintrofismo entre as bactérias redutoras de sulfato incompletas e as arqueias metanogênicas acetoclásticas, quando em condições de altas concentrações de sulfato aliados a relação DQO/sulfato igual a 3, em que as BRS por sua oxidação incompleta disponibilizavam acetato usado pelas AM como aceptor de elétrons para conversão da matéria orgânica, aumentando assim a eficiência do reator quanto à redução de sulfato concomitante com a remoção de matéria orgânica.

3.3 Reatores anaeróbios utilizados no tratamento de águas residuárias complexas contendo compostos sulfurosos

Diferentes sistemas de tratamento para águas residuárias orgânicas contendo sulfato vêm sendo propostos por diferentes autores com resultados distintos (DAMIANOVIC; FORESTI, 2009).

Silva et al. (2002) testaram a viabilidade de redução de sulfato a partir de águas residuárias ricas em sulfato, usando um reator anaeróbio de leito fixo em escala piloto. O biorreator foi instalado em uma indústria química que produz peróxidos orgânicos, que geram efluentes com concentrações de sulfato que variam de 12.000 a 35.000 mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$. Os autores preencheram previamente o reator com cubos de espuma de poliuretano e operaram inicialmente em regime descontínuo. Cinco testes foram realizados em lotes com água residuária industrial diluída. A eficiência de redução de sulfato e eficiência de remoção de DQO foram avaliadas em função da relação DQO/sulfato em cada teste realizado. Os autores usaram o etanol como doador de elétrons (15.000 a 40.000 mg DQO.L⁻¹), sendo que o efeito

dessa adição suplementar de etanol sobre o crescimento de bactérias redutoras de sulfato foi também avaliado. O reator também foi alimentado em regime semicontínuo, com a água residuária em estado bruto com elevadas concentrações de sulfato. Os autores concluíram que a adição de etanol estimulou as bactérias redutoras de sulfato, que predominaram sobre os organismos que produzem metano, mesmo em relações DQO/sulfato acima da estequiométrica definida (0,67). Neste estudo os autores relataram uma eficiência de redução de sulfato acima de 90%, com DQO de 29.200 mg DQO.L⁻¹ e concentração de sulfato de 2.750 mg SO₄²⁻.L⁻¹ (relação DQO/sulfato de 10,6), eficiência que foi atingida durante ambas as fases operacionais, descontínua e semicontínua. A remoção de DQO atingiu máxima de 68%, o autor atribuiu à inibição dos organismos metanogênicos devido à presença da concentração de sulfeto (1.020 mg H₂S.L⁻¹).

Weijma et al. (2003) operaram um reator UASB em condições mesofílicas (30°C), variando o pH (5-8) e usando afluente (sintético) contendo concentração de sulfato de 2 g SO₄²⁻.L⁻¹ e metanol de 1,33 g DQO.L⁻¹. Os autores relataram que mais de 90% do metanol foi transformado a metano, enquanto o restante do metanol (5-10%) foi usado pelas bactérias redutoras de sulfato. Os autores concluíram que a variação de pH e a adição de acetato (0,05 g DQO.L⁻¹) como substrato auxiliar, não estimulou a redução de sulfato. E que em média 0,4 g SO₄²⁻.L⁻¹ de sulfato foi reduzida em condições mesofílicas, no entanto, choques de temperatura de 65°C ou 80°C também não estimularam a redução do sulfato. Embora a conversão de metanol a metano acontecesse de forma muito mais estável na presença de sulfato, o estudo sugere que em condições mesofílicas, o metanol não é um doador de elétrons apropriado nos processos de redução de sulfato.

Vossoughi et al. (2003) analisaram o efeito exercido pela relação DQO/sulfato sobre o desempenho de um reator anaeróbio compartimentado. Água residuária sintética, simulando esgoto doméstico (3.000 mg DQO.L⁻¹), foi usada como fonte de carbono orgânico. O reator compartimentado foi operado com tempo de detenção hidráulica de 24 horas à temperatura de 35°C. Os resultados deste estudo mostraram que, quando a relação DQO/sulfato foi alterada de 16,7 para 6 (incremento de sulfato de 180 para 500 mg SO₄²⁻.L⁻¹), observou-se ligeiro aumento na eficiência de remoção de matéria orgânica (480 para 430 mg DQO.L⁻¹ no efluente) e na eficiência da redução de sulfato (20 para 16 mg SO₄²⁻.L⁻¹ no efluente). Estes fenômenos indicaram que bactérias metanogênicas e redutoras de sulfato poderiam existir no sistema atuando em sintrofismo. As eficiências máximas de remoção de DQO e redução de

sulfato foram de 86% e 97% respectivamente (para relação DQO/sulfato de 6), e mais de 65% desta remoção ocorreu no primeiro compartimento do reator.

Silva (2005) desenvolveu um sistema de tratamento composto por um reator anaeróbio para redução de sulfato (concentração de 500 mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ a 3.000 mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$) com adição de etanol como doador de elétrons (relação DQO/sulfato de 0,4 a 3,2) seguido de reator aeróbio microaerado (0,1 – 0,5 mg $\text{O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$) de batelada sequencial para oxidação do sulfeto presente no efluente do primeiro reator. A redução de sulfato atingiu 96% de eficiência no reator anaeróbio (relação DQO/sulfato 1,3), com oxidação do sulfeto a enxofre elementar de 80% no reator aeróbio.

Estudo realizado por Damianovic e Foresti (2007) com reator anaeróbio horizontal de leito fixo, com concentração de matéria orgânica de 1.160 a 6.200 mg $\text{DQO} \cdot \text{L}^{-1}$ e concentração de sulfato de 500 a 3.000 mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, trabalhando com diferentes relações de DQO/sulfato (1,0 a 4,9). Apontou eficiência maior que 91% na remoção combinada de matéria orgânica e redução de sulfato, quando a relação DQO/sulfato foi menor que 1,7. Os resultados demonstraram que a aplicação de reatores híbridos (reatores com diferentes rotas metabólicas disponíveis) para a remoção simultânea de matéria orgânica e redução de sulfato em águas residuárias ricas em sulfato proporcionou elevada estabilidade do sistema, uma vez que as bactérias redutoras de sulfato atuam como bactérias acetogênicas durante a redução do sulfato, fornecendo substrato para as arqueias metanogênicas acetogênicas.

Dar et al. (2008) estudaram a coexistência de bactérias redutoras de sulfato no lodo granular de um reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB) de 300 m³, tratando água residuária rica em sulfato de estação de tratamento químico na cidade de Emmen na Holanda. O reator foi operado em condições fixas de temperatura (30°C) e pH (7-7,5) com concentração de sulfato em torno de 1.500 mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$. A água residuária não continha qualquer composto orgânico e etanol foi adicionado como fonte de carbono orgânico e doador de elétrons, para manter a razão de doador de elétrons e sulfato em 0,4 kg.kg⁻¹ (DQO/sulfato de 0,4). Os autores concluíram que as diferentes características fenotípicas dos diferentes grupos (mobilidade e aderência) dão vantagens distintas para ambos os grupos. A coexistência de populações fisiologicamente similares no mesmo habitat pode ser entendida se estas populações ocupam nichos ecológicos distintos.

Sabumon (2008) estudou o tratamento de água residuária sintética com sacarose como fonte orgânica e sulfato em um reator anaeróbio híbrido de fluxo ascendente e manta de lodo,

inoculado com lodo floculento de processo de aeração estendida. O reator foi submetido a diferentes cargas de sulfato aplicadas (1.390 a 2.850 mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$) com tempo de detenção hidráulica de 24 horas, com relação DQO/sulfato variando de 1,8 a 1,3. Sendo que a carga de matéria orgânica foi de 2.500 a 3.750 mg DQO.L⁻¹. O autor observou que houve eficiência de remoção de DQO (50%) e redução de sulfato (70% a 75%). O autor ainda relatou que ao injetar ar contínua e controladamente (0,19 L.min⁻¹), ocorreu oxidação do sulfeto no interior do reator aumentando a redução do sulfato (>80%), possivelmente pela redução da toxicidade ao sulfeto. Este processo foi mantido para relações de DQO/sulfato de 1 e 1,8, pelo aumento da concentração de sulfato de 2.500 para 2.850 mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$.

Damianovic e Foresti (2009) operaram dois reatores anaeróbios horizontais de leito fixo em escala de bancada com biomassa imobilizada, testando a eficiência na remoção de matéria orgânica e redução de sulfato (concentração de 520 a 2.125 mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$) em água residuária sintética, utilizando etanol e ácidos orgânicos como doadores de elétrons (1.290 a 6.200 mg DQO.L⁻¹). Os autores ao substituírem o substrato combinado (acetato, propionato, butirato e etanol) por etanol em um dos reatores, observaram que o mesmo ampliou a eficiência da redução de sulfato de 83% a aproximadamente 100%, em relação DQO/sulfato igual a 3. Em contrapartida no segundo reator ao substituir as fontes de carbono por acetato, a sulfetogênese foi fortemente diminuída para 47% de eficiência. Os autores concluíram que o sintrofismo em vez da competição entre as bactérias redutoras de sulfato e as metanogênicas acetoclásticas prevaleceu nos reatores.

Oyekola et al. (2010) estudaram o efeito da concentração aplicada de sulfato sobre a cinética da redução anaeróbia de sulfato em culturas mistas de BRS, utilizando o lactato como doador de elétrons (120% da quantidade estequiométrica requerida baseada na alimentação de sulfato, ou seja, DQO/sulfato de 0,8). As culturas foram mantidas em reatores de tanque agitados com tempo de residência de 0,5 a 5 dias sendo alimentado com concentrações de sulfato de 1 a 10 g.L⁻¹. Os reatores foram caracterizados pelas altas taxas de redução de sulfato com valores máximos de 0,20 e 0,24 g.h⁻¹. Os autores relataram que as concentrações de sulfato mensuradas no efluente foram de 2 a 6 vezes menores que às observadas na alimentação, ou seja, 58 a 85% de eficiência de redução. Os resultados indicaram mudança da utilização do lactato, de oxidação para fermentação. Isto implica em mudança nos componentes dominantes do consórcio microbiano dos reatores, sugerindo que a estrutura da população foi influenciada pela afinidade do lactato e da concentração de sulfeto dissolvido (0,3-0,6 g.L⁻¹). Os autores concluíram que a alta capacidade das oxidadoras para usarem

lactato quando este se encontra em concentrações limitantes, lhes dão maior resistência ao sulfeto em comparação com as fermentadoras de lactato.

Sarti e Zaiat (2011) estudaram a redução biológica do sulfato em um reator de batelada sequencial em escala de laboratório, utilizando carvão mineral como material suporte para formação do biofilme microbiano. O reator foi alimentado com água residuária de indústria química de alimentos (sulfonada com óleos vegetais, arroz, milho e soja) com concentrações de sulfato de $289 \text{ mg SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ a $3.179 \text{ mg SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$. Esta mesma indústria despeja na mesma água residuária resina de melamina com concentrações de butanol (doador de elétrons) de aproximadamente $155 \text{ g DQO} \cdot \text{L}^{-1}$. Assim as relações DQO/sulfato aplicadas foram de 5,3 e 0,48. O reator foi operado com um total de 65 ciclos de 48 horas cada ciclo. A redução de sulfato atingiu 99%, em curto período de operação com relação DQO/sulfato 3,4. Os autores concluíram que o reator de batelada sequencial demonstrou o seu potencial para o tratamento de água residuária complexa por vias biológicas contendo sulfato, tendo o butanol como doador de elétrons.

Singh et al. (2011) estudaram a eficiência de remoção de matéria orgânica e redução de sulfato; e a influência do cromo (VI) no tratamento esgoto doméstico, em um biorreator anaeróbio com biomassa suspensa em escala de bancada, usando consórcio de bactérias redutoras de sulfato. Os autores usaram diferentes TDHs (0 a 168 horas) e variaram a concentração inicial do metal de $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ para $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, além de utilizar várias fontes de carbono (glicose $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, frutose $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, sacarose $5,9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, e lactato $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) para verificar a remoção de cromo (VI) e sulfato. Os autores relataram remoção máxima de cromo (VI) e redução de sulfato com valores de 96,7% e 82,5% respectivamente, para o lactato como fonte orgânica, relação DQO/sulfato de 1,85 e cromo de $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

Mulopo et al. (2011) trataram água residuária de efluente de mineração de pirita (dissulfeto de ferro – FeS_2) em reator anaeróbio de batelada agitada para avaliar a redução biológica de sulfato por meio da degradação/fermentação da polpa de celulose e ácidos orgânicos. Os resultados mostraram que altas concentrações de DQO ($10.590 \text{ mg DQO} \cdot \text{L}^{-1}$) e ácidos orgânicos ($>2.000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), foram alcançadas após a acidificação da polpa de celulose, o que resultou em rápido decréscimo da concentração de sulfato no reator (de 2.150 para $850 \text{ mg SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$). Os resultados dos ácidos orgânicos indicaram que o propionato e o butirato foram preferencialmente utilizados, produzindo acetato, este último preferencialmente utilizado pelas arqueias metanogênicas.

Pizarro et al. (2011) utilizaram reator de leito fluidizado com pedra pomes como suporte e inóculo não adaptado ao sulfato para estudar a degradação de matéria orgânica e remoção de sulfato (DQO de 0,5 a 1,1 g DQO.L⁻¹ e relação DQO/sulfato de 3 a 10) em água residuária semissintética de vinho. Durante a fase de formação do biofilme a eficiência de remoção de matéria orgânica e redução de sulfato atingiram 70%. Os autores observaram que a atividade metanogênica específica do biofilme aumentou ao longo do experimento. Concluíram que a utilização do reator de leito fluidizado foi uma estratégia importante de partida para o desenvolvimento inicial do biofilme a partir de uma biomassa não aclimatada, aumentando a eficiência de remoção de matéria orgânica e redução de sulfato de 82% de remoção de DQO e 65% de redução de sulfato em relação DQO/sulfato de 6 para 92% de remoção de DQO e 81% de redução de sulfato em relação DQO/sulfato de 4.

Mockaitis (2012) realizou estudo do tratamento de água residuária complexa sulfatada contendo os íons Cu²⁺ e Cd²⁺, em concentrações abaixo do limite de toxicidade, em biorreator anaeróbio contínuo de leito fixo ordenado. O reator foi operado com TDH de 12 a 15 horas, DQO da água residuária sintética baseada em esgoto sanitário (500 mg DQO.L⁻¹) e temperatura constante (30°C). Durante a fase na qual o biorreator foi operado em condições metanogênicas, o biorreator apresentou estabilidade, no entanto observou-se o efeito tóxico dos metais pela diminuição na eficiência de remoção de matéria orgânica. Após o estabelecimento da sulfetogênese, o reator foi operado em duas condições de relação DQO/sulfato (0,68 a 1,99), com concentrações de 250 – 735 mg SO₄²⁻.L⁻¹ de sulfato. Na condição de relação DQO/sulfato de 0,68, houve eficiência de redução de 70% e produção de sulfeto de 28,3 mg H₂S.L⁻¹, sendo que biorreator operou com mais estabilidade quanto à remoção de sulfato nesta fase. O autor enfatiza que neste estudo em relações DQO/sulfato (1,99) o sulfato age como inibidor do próprio metabolismo. Entretanto, a remoção dos metais (Cu²⁺ e Cd²⁺) presentes na água residuária não foi completa, mesmo com o sistema operando com uma concentração excedente (em concentração mais do que suficiente para precipitar todo o metal contido no biorreator) de sulfeto biogênico livre.

Li et al. (2012) realizaram estudo com redução de sulfato de água residuária de fábrica de fibra de acrílico (concentração média de DQO de 4.528 mg DQO.L⁻¹ e sulfato de 2.158 mg SO₄²⁻.L⁻¹), tratada por reator UASB de dois estágios (estágio metanogênico e outro sulfetogênico). Os reatores foram operados em condições mesofílicas (35°C), variando o tempo de detenção hidráulica (28 e 40 horas) e a relação DQO/sulfato de 0,5 a 4,7. Os autores concluíram que o aumento da redução de sulfato ocorreu à medida que houve incremento da

relação DQO/sulfato até a faixa de 4,7. Em relação DQO/sulfato de 0,5 o crescimento das bactérias redutoras de sulfato foi limitado e a remoção de sulfato ficou em 15%. A eficiência de redução de sulfato atingiu valores de 90% a 92% (máximo de eficiência) com relação DQO/sulfato de 2,1.

Lu et al. (2012), desenvolveram um novo sistema para remoção biológica de compostos nitrogenados concomitante com sulfato e matéria orgânica (SANI® - *Sulphate reduction Autothrophic denitrification and Nitrification Integrated*), ou seja, redução de sulfato com desnitrificação autotrófica e nitrificação integrada. O SANI® em escala piloto consiste de um reator para redução de sulfato de fluxo ascendente e manta de lodo, seguido um biorreator anóxico para desnitrificação autotrófica e um biorreator aeróbio para nitrificação. O processo SANI® reduziu cerca de 90% do lodo residual, remoção de DQO de 87% e de sulfato de 45%. Os autores reportam ainda que a remoção de Nitrogênio Total alcançou 74% e nitrato de 99%. Este estudo confirmou que o sulfeto de hidrogênio produzido atuou eficientemente como aceptor de elétrons para desnitrificação, com remoção concomitante destes no reator.

Para melhor compreensão e comparação, alguns dos diferentes tipos de reatores anaeróbios empregados, os doadores de elétrons utilizados, os compostos concomitantemente removidos ou reduzidos, suas respectivas eficiências, e os autores reportados são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Comparação entre alguns reatores anaeróbios relatados na literatura e as suas eficiências de remoção e redução dos compostos

Tipo de reator anaeróbio	Relação DQO/sulfato	Doador de elétrons	Eficiências de remoção e redução relatadas	Autores reportados
Mistura completa	1,0	Sacarose ou etanol	59% Sulfato; 41% DQO	Maree et al., 2000
Leito fixo	0,5 – 10,6	Etanol	97% Sulfato	Silva et al., 2002
Anaeróbio compartimentado	6,0 – 16,7	Esgoto doméstico sintético	97% Sulfato; 86% DQO	Vossoughi et al., 2003
Fluxo ascendente e manta de lodo	0,67	Metanol	5-10% Sulfato; >90% DQO	Weijma et al., 2003
Batelada sequencial	3,0	Sacarose	98% Sulfato; 86% DQO	Silva et al., 2003
Batelada	2,8	Lactato e etanol	70% Sulfato; 93 – 97% DQO	Cattony et al., 2003
Anaeróbio horizontal de leito fixo	1,0 – 4,9	Etanol, acetato, propionato e butirato	acima de 80% Sulfato e DQO	Damianovic e Foresti, 2007
Anaeróbio horizontal de leito fixo	1,4 – 3,5	Etanol	99% de sulfato; >90% DQO	Damianovic e Foresti, 2009
Anaeróbio horizontal de leito fixo	1,4 – 3,5	Acetato	47% Sulfato; 81%DQO	Damianovic e Foresti, 2009
Batelada sequencial	1,5 – 2,13	Efluente de indústria química e etanol	88-92% Sulfato	Sarti et al., 2009
Tanque agitado	0,8	Lactato	58%-85% Sulfato	Oyekola et al., 2010
Batelada agitada	3,9 – 4,9	Polpa de celulose	80% Sulfato	Mulopo et al., 2011
Leito fluidizado	3,0 – 10,0	Efluente semissintético de vinho	acima de 65% Sulfato e DQO	Pizarro et al., 2011
Batelada sequencial	2,6 – 3,67	Butanol	71-95% Sulfato	Sarti e Zaiat, 2011
Cilíndrico de vidro com Biomassa Suspensa	1,4	Lactato, glicose, sacarose e frutose	82% Sulfato; 96% DQO	Singh et al., 2011
Batelada	3,0	Álcool etílico	97% Sulfato; 50% DQO	Cao et al., 2011
Fluxo ascendente e manta de lodo	1,1 – 1,85	Esgoto doméstico	24% Sulfato; 54% DQO	Subtil et al., 2012
Fluxo ascendente e manta de lodo	0,5 – 4,7	Água residuária industrial de fábrica de acrílico	75% Sulfato	Li et al., 2012

3.4 Considerações finais

Baseado no que reporta a literatura, a redução de sulfato concomitante com a remoção de matéria orgânica em reatores anaeróbios constitui uma perspectiva importante. Os reatores exclusivamente metanogênicos tem a sua robustez e eficiência aumentadas após a implantação da redução de sulfato no sistema de tratamento. No entanto, a fração dos doadores de elétrons conduzida para sulfetogênese e para a metanogênese não foram claramente entendidas como apontam os dados relatados. A redução de sulfato requer elétrons, vindos da matéria orgânica, mas dependendo da rota – oxidação completa ou incompleta – o valor requerido é diferente para cada rota utilizada. Estudos sobre a influência da relação DQO/sulfato próximas ao limite estequiométrico para remoção da matéria orgânica via sulfato (DQO/sulfato de 0,67) e para relações nas quais a metanogênese é a rota principal de remoção de matéria orgânica (DQO/sulfato maior que 10) possibilitam a identificação das rotas metabólicas envolvidas, entretanto são escassos. Este trabalho pretendeu contribuir para compreensão do fluxo de elétrons durante a remoção de matéria orgânica e sulfato de águas residuárias orgânicas ricas em sulfato para relações DQO/sulfato variando de 12,5 a 0,75.

4 INSTALAÇÕES, TÉCNICAS EXPERIMENTAIS E MÉTODOS ANALÍTICOS

4.1 Instalações experimentais

O presente estudo foi realizado em sua totalidade – tanto a parte física quanto à parte analítica do experimento – nas dependências do Laboratório de Processos Biológicos (LPB) da Escola de Engenharia de São Carlos (EESC) da Universidade de São Paulo (USP).

4.1.1 Aspectos gerais

Para realização deste estudo foi utilizado um reator anaeróbio horizontal com biomassa imobilizada, preenchido com meio suporte poroso para facilitar a formação e fixação do biofilme, inoculado com lodo granular de tratamento anaeróbio de água residuária de abatedouro de aves. O reator foi mantido em câmara a temperatura de 30°C ($\pm 3^\circ\text{C}$) e alimentado com água residuária sintética enriquecida com sulfato, usando etanol como única fonte de matéria orgânica.

4.1.2 Reator anaeróbio horizontal de leito fixo

O reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF), desenvolvido por Foresti et al. (1995), foi construído em acrílico, com comprimento de 100 cm, diâmetro de 5 cm de raio, volume total de 1.991 ml. O reator conta com sistema coletor/separador de gás externo e 4 pontos de amostragem (Portas L/D 4, 8, 12 e 16) ao longo de seu comprimento distribuídos de 20 em 20 cm. O reator foi preenchido com aproximadamente 20 g de meio suporte, inoculado com 500 ml de lodo granulado. O reator foi alimentado com água residuária sintética por meio mangueiras de silicone com fluxo constante mantido por uma bomba peristáltica com vazão média de 60 ml.hora⁻¹ de água residuária, que corresponde a aproximadamente ao tempo de detenção hidráulica (TDH) de 12 horas (± 1 hora). Na Figura 2 está apresentado o esquema do reator usado no experimento.

Figura 2 – Esquema RAHLF em escala de bancada

4.1.2.1 *Meio suporte*

O meio suporte utilizado para aderência dos organismos e formação do biofilme no RAHLF foi espuma de poliuretano (PU), densidade aparente de $0,85 \text{ g/cm}^3$, cortado em cubos de aproximadamente 3 mm. A escolha desse material como meio suporte para o inóculo ocorreu por ser inerte, apresentar estabilidade térmica e elevada resistência química, além de baixo custo por metro quadrado.

4.1.2.2 *Inóculo*

O Lodo granulado usado como inóculo no RAHLF foi proveniente de reator anaeróbico de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB) tratando água residuária de um abatedouro de aves. A escolha se justifica devido principalmente à grande diversidade microbiana apresentada no lodo (HIRASAWA, 2003). O lodo foi submetido à trituração mecânica para desfazer os grânulos em porções menores seguindo recomendações de Zaiat et al. (1994), misturado e homogeneizado no meio suporte, deixados em repouso por 24 horas a temperatura ambiente. Após este processo o material foi transferido para o RAHLF.

4.1.3 Condições nutricionais

O reator anaeróbio foi alimentado com água residuária sintética, cuja composição está descrita na Tabela 2. A água residuária foi preparada com volume final de 10 litros, conservada em refrigerador com temperatura média de 10°C ($\pm 3^\circ\text{C}$) para manter as características e evitar possível acidificação.

Tabela 2 – Composição da água residuária sintética usada no experimento

Constituintes	Concentração das soluções estoque (g.L ⁻¹)	Concentração no substrato (ml.L ⁻¹)
Solução de macronutrientes 1 (VISSER et al., 1993)		
Cloreto de Amônio (NH ₄ Cl)	15,00	1,00
Hidrogenofostafo de Potássio (KH ₂ PO ₄)	17,50	
Solução de macronutrientes 2 (VISSER et al., 1993)		
Cloreto de Potássio (KCl)	27,00	0,03
Cloreto de Magnésio hexaidratado (MgCl ₂ .6H ₂ O)	15,00	
Solução para manutenção do pH		
Hidróxido de Sódio (NaOH)	80,00	1,50
Solução de micronutrientes/metais (TORRES, 1992)		
Ácido Nitrilotriacético (C ₆ H ₉ NO ₆)	12,80	1,00
Cloreto Férrico hexaidratado (FeCl ₃ .6H ₂ O)	01,35	
Cloreto de Magnésio tetraidratado (MnCl ₂ .4H ₂ O)	0,100	
Dicloreto de Cobalto hexaidratado (CoCl ₂ .6H ₂ O)	0,024	
Cloreto de Cálcio dihidratado (CaCl ₂ .2H ₂ O)	0,100	
Cloreto de Zinco Anidro (ZnCl ₂ anidro)	0,100	
Cloreto de Cobre dihidratado (CuCl ₂ .2H ₂ O)	0,025	
Ácido Bórico (H ₃ Bo ₃)	0,010	
Molibdato de Sódio hidratado (NaMoO ₄ .H ₂ O)	0,024	
Cloreto de Sódio (NaCl)	01,00	
Selenito de Sódio pentaidratado (Na ₂ SeO ₃ .5H ₂ O)	0,026	
Cloreto de Níquel hexaidratado (NiCl ₂ .6H ₂ O)	0,120	
Solução de vitaminas (TOUZEL; ALBAGNAC, 1983)		
Biotina (C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₃ S)	0,009	0,5
Ácido Fólico (C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₃ S)	0,009	
Tiamina (C ₁₂ H ₁₇ N ₄ OS)	0,023	
Riboflavina (C ₁₇ H ₂₀ N ₄ O ₆)	0,023	
Ácido Nicotínico (C ₆ H ₅ NO ₂)	0,023	
Pantotenato de Cálcio (C ₁₈ H ₃₂ CaN ₂ O ₁₀)	0,023	
Piridoxina (C ₈ H ₁₁ NO ₃)	0,046	
Colabamina (C ₆₃ H ₈₈ CoN ₁₄ O ₁₄ P)	0,0001	
Ácido Lipóico (C ₈ H ₁₄ O ₂ S ₂)	0,023	
Ácido p-aminobenzóico (NH ₂ C ₆ H ₄ COOH)	0,023	
Solução orgânica (doador de elétrons)		
Álcool Etilico – Etanol (CH ₃ CH ₂ OH)	P.A.	1,00
Solução composto sulfuroso		
Sulfato de Sódio (Na ₂ SO ₄ ²⁻)	63,00	3,0; 5,0; 12,5; 20,0; 30,0 e 37,5

O etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) foi escolhido como fonte orgânica por ser um doador de elétrons adequado aos processos biológicos envolvidos, permitir fácil manipulação e por apresentar custo relativamente baixo.

Para enriquecer a água residuária com sulfato utilizou-se o composto na forma de sal de Sulfato de Sódio ($\text{Na}_2\text{SO}_4^{2-}$).

Hidróxido de Sódio (NaOH) foi adicionado à água residuária sintética para manutenção do pH no reator na faixa de 7,0 a 8,0, a fim de minimizar os efeitos toxicológicos do Sulfeto de Hidrogênio (H_2S) produzido biogenicamente pelas comunidades anaeróbias presentes no reator (HULSHOFF POL et al., 2001).

4.1.4 Configuração experimental

Para avaliar a remoção de matéria orgânica e redução de sulfato pelas vias metanogênica e sulfetogênica combinadas, foram utilizadas seis fases distintas, em que foi realizada a adaptação do inóculo para a sulfetogênese e testadas diferentes concentrações de sulfato e consequentemente diferentes relações DQO/sulfato, para avaliação da eficiência de remoção dos compostos da água residuária sintética. Durante o experimento foi realizado o incremento gradativo da concentração de sulfato e mantida a concentração de etanol (valor expresso em DQO de $1.500 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$), ou seja, promoveu-se a pressão de seleção biológica para estabelecimento da sulfetogênese pela redução da relação DQO/sulfato (Tabela 3).

Tabela 3 – Condições operacionais aplicadas ao experimento com o RAHLF

Compostos	Fases para avaliação da metanogênese e sulfetogênese		
	Fase 1	Fase 2	Fase 3
DQO ($\text{mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$)	1.500	1.500	1.500
Sulfato ($\text{mg SO}_4^{2-}\cdot\text{L}^{-1}$)	120	200	500
Relação DQO/sulfato	12,5	7,5	3
Compostos	Fases para avaliação da metanogênese e sulfetogênese		
	Fase 4	Fase 5	Fase 6
DQO ($\text{mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$)	1.500	1.500	1.500
Sulfato ($\text{mg SO}_4^{2-}\cdot\text{L}^{-1}$)	800	1.500	2.000
Relação DQO/sulfato	1,9	1	0,75

4.1.5 Representação esquemática do tratamento

A representação esquemática simplificada do processo anaeróbico de tratamento de águas residuárias orgânicas contendo sulfato pelas vias metanogênica e sulfetogênica combinadas no reator anaeróbico horizontal de leito fixo (RAHLF) com biomassa imobilizada é apresentando pelo diagrama da Figura 3.

Figura 3 – Representação esquemática simplificada do tratamento anaeróbico de remoção de matéria orgânica e redução de sulfato pelas vias metanogênica e sulfetogênica combinadas em reator anaeróbico horizontal de leito fixo

4.2 Métodos analíticos para avaliação da eficiência do reator

4.2.1 Análises biológicas

4.2.1.1 Análise quantitativa microbiológica

A quantificação do crescimento da comunidade biológica do inóculo e da fase final de operação do reator foi feita por meio da técnica de Número Mais Provável (NMP) descrita em *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005) e modificada por Sakamoto e Varesche (2009) para a análise de BRS, podendo ser empregada também para arqueias metanogênicas e bactérias anaeróbias totais. Os resultados das análises biológicas para estimativa dos organismos envolvidos na degradação da matéria orgânica e redução de

sulfato pela técnica de NMP foram expressos em número mais provável por cem mililitros (NMP.100 mL⁻¹).

4.2.2 Análises físico-químicas

4.2.2.1 Determinação da concentração de sulfato

O sulfato foi mensurado com o auxílio de um cromatógrafo de íons da marca *Dionex*® modelo ICS-3.000, o resultado foi obtido por meio do *software Dionex*® *Chromeleon Instrumental Control* versão 6.8. A preparação das amostras e curvas de calibração seguiu a metodologia do fabricante do equipamento, que por sua vez seguiu recomendações de APHA (2005). Os resultados foram expressos em miligramas de íon sulfato por litro (mg SO₄²⁻.L⁻¹).

4.2.2.2 Determinação da demanda química de oxigênio

A DQO foi determinada seguindo recomendações de *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005) e obtida diretamente por leitura em espectrofotômetro da marca *Hach*® modelo DR-2800, em comprimento de onda de 620 nm por curva padrão calibrada no laboratório. Os resultados foram expressos em miligramas de oxigênio por litro (mg O₂.L⁻¹).

4.2.2.3 Determinação de alcalinidade

O objetivo da determinação da alcalinidade foi avaliar a estabilidade dos processos quanto à geração e consumo de ácidos orgânicos. A relação entre Alcalinidade Intermediária e Alcalinidade Parcial (AI/AP), fornece indicativos adequados sobre o equilíbrio do processo anaeróbico, sendo um importante parâmetro para operação dos reatores. O método empregado para determinar a alcalinidade total foi o titulométrico com detecção potenciométrica (APHA,

2005), realizada com titulação de solução padronizada de ácido sulfúrico (H_2SO_4) em 50 ml da amostra, atingindo valores de pH de 5,75 (alcalinidade parcial) e pH de 4,3 (alcalinidade intermediária). Os resultados obtidos foram expressos em miligramas de carbonato de cálcio por litro ($\text{mg CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$).

4.2.2.4 Determinação da concentração dos ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*) no efluente do reator. Os ácidos foram analisados por sistema *Shimadzu*® equipado com bomba LC-10ADVP, válvula FCV-10ALVP, detector ultravioleta (UV) com arranjo de diodos (SPD-M10 AVP), controlador SCL-10AVP e injetor *Rheodyne*® (100 μL loop), com coluna *Aminex*® HPX-87H (300 mm x 7,8mm; Bio58 Rad). Os resultados das injeções cromatográficas foram analisados com auxílio de *software Class-VP Shimadzu*®. A elaboração das curvas de calibração do HPLC seguiu as recomendações do fabricante do equipamento, a preparação das amostras seguiu metodologia descrita em Lazaro (2009). A relação dos ácidos orgânicos analisados, suas formas moleculares e o valor relativo de suas concentrações em termos de DQO são apresentados na Tabela 4. Os resultados foram expressos em miligramas por litro ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

Tabela 4 – Concentração em termos de DQO dos ácidos orgânicos analisados

Ácido orgânico	DQO relativa a 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ do ácido	Fórmula molecular (Hill)
Cítrico	0,666	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$
Málico	0,716	$\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_5$
Lático	1,066	$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$
Fórmico	0,348	CH_2O_2
Succínico	0,948	$\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4$
Acético	1,066	$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$
Propiônico	1,512	$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2$
Iso-butírico	1,816	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$
Butírico	1,816	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$
Iso-valérico	2,193	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_2$
Valérico	2,193	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_2$
Capróico	2,204	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_2$

4.2.2.5 Determinação do potencial Hidrogeniônico

O potencial Hidrogeniônico (pH) foi determinado em potenciômetro da marca *Denver Instruments*® modelo UB-10 com precisão de 0,005 pH e eletrodo combinado de platina marca *Digimed*® modelo DMR-CP1 referência Ag/AgCl, seguindo recomendações de APHA (2005). As amostras foram mensuradas na forma bruta logo após coleta no reator. Essa determinação foi determinante para especiação do sulfeto produzido, conforme apresentado no item 4.2.2.6.

4.2.2.6 Determinação da concentração de sulfeto de hidrogênio

As diferentes frações do sulfeto de Hidrogênio podem apresentar as seguintes formas de acordo com o pH: íon sulfeto (S^{2-}), sulfeto de Hidrogênio fase gasosa (HS^-), sulfeto de Hidrogênio fase líquida (H_2S).

O equilíbrio para o íon sulfeto (S^{2-}), H_2S (fase líquida) e para HS^- (fase gasosa) em relação ao pH é demonstrado na Figura 4.

Figura 4 – Constante de equilíbrio para as diferentes formas de sulfeto em relação ao pH

A concentração de sulfeto de hidrogênio aquoso foi determinada usando método colorimétrico em espectrofotômetro *Hach*® DR-2800 empregando *Kit Hach*® para análise de sulfeto (código dos reagentes 1816-32 e 1877-32), preparados pelo fabricante de acordo com as recomendações de APHA (2005).

O sulfeto foi fixado logo após a coleta com solução de acetato de zinco (ZnAc) preparada conforme APHA (2005). A coleta para a fixação do sulfeto de hidrogênio com ZnAc foi realizada conforme descrito na norma técnica CETESB L5.127 (1978). Os resultados obtidos para a concentração de sulfeto de hidrogênio biogênico produzido pela redução do sulfato foram expressos em miligramas de sulfeto de hidrogênio por litro ($\text{mg H}_2\text{S.L}^{-1}$). A especiação foi feita com base no pH.

4.3 Monitoramento da eficiência do reator

O monitoramento da eficiência do reator foi acompanhado com determinações físico química (DQO, pH, sulfato e alcalinidade total) realizadas no afluente e efluente, determinação de sulfeto de hidrogênio e ácidos orgânicos, realizadas apenas no efluente do reator. Foi realizada análise microbiológica da estimativa do número de organismos envolvidos no tratamento da água residuária sintética por meio da técnica de Número Mais Provável (NMP). Essa técnica foi empregada no inóculo utilizado e no lodo após a fase final de operação do reator anaeróbio. Para melhor compreensão são apresentados, os testes analíticos para avaliação da remoção de matéria orgânica e redução de sulfato pelas vias metanogênica e sulfetogênica combinadas (Tabela 5).

Tabela 5 – Testes analíticos realizados para avaliação do RAHLF

Condições de avaliação da metanogênese e sulfetogênese			
Parâmetro	Local de amostragem	Frequência	Metodologia
DQO	Afluente, efluente	3 vezes por semana	Espectrofotométrico
pH	Afluente, efluente	3 vezes por semana	Potenciométrico
Alcalinidade total	Afluente, efluente	3 vezes por semana	Titulométrico
Sulfato	Afluente, efluente	3 vezes por semana	Cromatográfico
Ácidos orgânicos	Efluente	3 vezes por semana	Cromatográfico
Sulfeto de Hidrogênio	Efluente	3 vezes por semana	Espectrofotométrico
Exames microbiológicos	Quantificação do crescimento da comunidade bacteriana	Inóculo e fim da condição operacional	Número Mais Provável (NMP)

Ao final de cada fase experimental foram realizados perfis de concentrações de DQO, sulfato e sulfato para acompanhamento das reações envolvidas na degradação de matéria orgânica e redução de sulfato, com análises de sulfato, pH, DQO (afluente, portas de amostragem L/D 4, 8, 12, 16 e efluente) e sulfeto de hidrogênio (portas de amostragem L/D 4, 8, 12, 16 e efluente) em amostras retiradas ao longo do reator. Estas análises foram realizadas em duplicata em dias alternados (Tabela 6).

Tabela 6 – Testes analíticos realizados no perfil de concentração operacional do RAHLF

Perfil de concentrações operacionais do RAHLF			
Parâmetro	Local de amostragem	Frequência	Metodologia
DQO	Afluente, portas (L/D 4, 8, 12 e 16) e efluente	A cada nova condição operacional	Espectrofotométrico
pH	Afluente, portas (L/D 4, 8, 12 e 16) e efluente	A cada nova condição operacional	Potenciométrico
Sulfato	Afluente, portas (L/D 4, 8, 12 e 16) e efluente	A cada nova condição operacional	Cromatográfico
Sulfeto de Hidrogênio	Portas (L/D 4, 8, 12 e 16) e efluente	A cada nova condição operacional	Espectrofotométrico

4.4 Métodos estatísticos utilizados para análise dos dados obtidos

Para avaliar o desempenho do reator anaeróbio nas fases de remoção combinada de matéria orgânica e redução de sulfato e geração de sulfeto de hidrogênio biogênico, foi realizada a estatística descritiva de média, máximo, mínimo, desvio padrão e erro padrão, seguindo recomendações de Bussab e Morettin (2011). Para o cálculo estatístico descritivo dos dados obtidos foi utilizado o software *Microsoft® Office Excel 2010*, habilitado com as ferramentas de análise de dados e *solver*.

Para analisar estatisticamente os resultados obtidos nos ácidos orgânicos e para análise da eficiência de remoção de DQO, redução de sulfato e geração de sulfeto biogênico, optou-se pela análise estatística com diagrama de *boxplot*, seguindo recomendações de Bussab e Morettin (2011). Para o cálculo estatístico do diagrama do *boxplot* e geração do gráfico de caixas e bigodes foi utilizado o software *Microsoft® Office Excel 2010*.

5 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Neste capítulo estão apresentados os resultados de operação do sistema experimental, nas condições impostas para o estudo da redução de sulfato e remoção de matéria orgânica, bem como a interpretação dos resultados obtidos para compreensão das reações de remoção ocorridas nas vias metanogênica e sulfetogênica combinadas.

5.1 Condições operacionais do reator

A operação do reator RAHLF foi realizada em condições constantes de vazão, temperatura e TDH, conforme apresentado na Tabela 7.

Tabela 7 – Variáveis das condições operacionais do reator

Condições operacionais do reator			
Variáveis	Valor teórico	Valor médio	Erro
Vazão (ml.h ⁻¹)	60	61,4	± 5
Temperatura câmara (°C)	30	31,3	± 3
Tempo de detenção hidráulica (Horas)	12	12,5	± 1

O reator foi operado por período de 213 dias, sendo 65 dias de período de adaptação (fases 1 e 2) para estabelecimento da sulfetogênese, a partir de lodo predominantemente metanogênico e 148 dias de período operacional (fases 3, 4, 5 e 6) em que a sulfetogênese e a metanogênese foram avaliadas para diferentes relações DQO/sulfato. Foram aplicadas diferentes concentrações de sulfato e concentração fixa de matéria orgânica para avaliar a remoção de DQO pelas vias metanogênica e sulfetogênica combinadas e a influência do sulfeto produzido.

5.2 Avaliação do desempenho do reator

5.2.1 Comportamento do reator em relação à matéria orgânica

A concentração aplicada de matéria orgânica ao longo do experimento foi próxima a $1.500 \text{ mg O}_2\text{L}^{-1}$. A estatística descritiva dos valores teóricos aplicados e os respectivos valores obtidos nas análises químicas são descritos na Tabela 8 e ilustrados na Figura 5. As variações observadas na concentração aplicada indicam incertezas na tomada de volumes de etanol no preparo da água residuária sintética e eventual ocorrência de degradação durante o período de utilização da água residuária até a data de análise da DQO.

Tabela 8 – Estatística descritiva da concentração de matéria orgânica aplicada

Concentração de matéria orgânica aplicada (expresso em DQO) ($\text{mg O}_2\text{L}^{-1}$)					
Fases operacionais	Valor teórico	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
Fase 1	1.500	1.578	1.160	1.887	226,4
Fase 2	1.500	1.591	1.466	1.749	92,1
Fase 3	1.500	1.641	1.475	1.807	88,8
Fase 4	1.500	1.591	1.545	1.630	26,8
Fase 5	1.500	1.658	1.537	1.881	125,6
Fase 6	1.500	1.620	1.403	1.876	163,3

Figura 5 – Gráfico da estatística descritiva da concentração de matéria orgânica afluyente

O reator se mostrou eficiente na remoção de matéria orgânica, com valores médios de remoção de DQO em todas as fases acima de 75%, no entanto a maior instabilidade ocorreu na fase 1 (início da operação de partida), conforme aponta o coeficiente de variação acima de 80%, tornando-se mais estável no restante das outras fases estudadas (Tabela 9). Ressalta-se que os valores médios e coeficiente de variação foram calculados com base em todos os dados obtidos em cada fase e que, ao início de cada fase, pontuada pela alteração das condições operacionais, ocorreu redução na eficiência do sistema (Figura 6).

Tabela 9 – Estatística descritiva da concentração de matéria orgânica removida

Concentração de matéria orgânica removida					
Fases operacionais	Eficiência remoção (%)			Desvio Padrão	Coeficiente de Variação
	Média	Mínimo	Máximo		
Fase 1	93,9%	81,7%	99,1%	6,2%	88,6%
Fase 2	95,7%	94,2%	98,4%	1,6%	37,6%
Fase 3	93,6%	88,8%	98,2%	3,1%	49,5%
Fase 4	88,0%	81,2%	93,3%	3,7%	31,6%
Fase 5	78,9%	67,5%	85,1%	5,8%	25,4%
Fase 6	84,4%	70,1%	92,2%	6,9%	49,1%

Figura 6 – Concentrações de matéria orgânica (DQO) no afluente e efluente durante o período experimental

A maior eficiência de remoção de DQO do reator aconteceu na fase 2 com média de 95,7% de matéria orgânica removida, enquanto o menor valor de remoção de matéria orgânica ocorreu na fase 5 com média de valores 78,9%, seguido pela fase 6 com média de valores de 84,4% de eficiência de remoção de DQO (Figura 7).

Figura 7 – Gráfico da estatística descritiva da eficiência da remoção de matéria orgânica

Observou-se que a DQO efluente manteve-se abaixo dos 200 mg $O_2.L^{-1}$ nas fases 1 e 2. Nestas fases as concentrações de sulfato foram de 120 e 200 mg $SO_4^{2-}.L^{-1}$ respectivamente, quando a sulfetogênese estava sendo estabelecida. Este comportamento foi observado até o fim da fase 3, em que o reator foi submetido a concentrações de sulfato de até 500 mg $SO_4^{2-}.L^{-1}$ e a sulfetogênese se estabeleceu, diminuindo gradativamente a média da eficiência de remoção de matéria orgânica até a fase 5, retomando valores acima de 80% de eficiência na fase 6 (Figura 8).

Figura 8 – Média das concentrações de DQO aplicadas e removidas e porcentagem média da eficiência de remoção

Os valores de remoção de matéria orgânica foram similares aos relatados por Damianovic et al. (2006) para adaptação de reator anaeróbio horizontal de leito fixo as condições de aumento de concentração de sulfato aplicadas para atingir valores de remoção de matéria orgânica entre 80% até aproximadamente 100% de eficiência, no entanto, os mesmos valores foram diferentes dos relatados por Omil et al. (1998) que utilizaram reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (UASB), em que o período de adaptação para atingir eficiência média de remoção de matéria orgânica acima de 80% foi de 250 dias. O reator do presente estudo apresentou elevado potencial para degradação da matéria orgânica devido ao inóculo utilizado, o qual apresentava elevada atividade metanogênica (dado não apresentado).

A partir da fase 4 observou-se aumento da concentração de matéria orgânica (DQO) no efluente, com valores médios de 190,4 mg O₂.L⁻¹, mantendo este comportamento nas fases 5 e 6 com valores médios de 346,1 e 256,9 mg O₂.L⁻¹ respectivamente (Tabela 10).

Tabela 10 – Concentração de matéria orgânica (DQO) no afluente e efluente do reator

Concentração de matéria orgânica removida (expressa em DQO) (mg O ₂ .L ⁻¹)					
Fases operacionais	Média da Concentração Afluente	Concentração no Efluente			Desvio Padrão
		Média	Mínimo	Máximo	
Fase 1	1.578	85,1	13,0	225,2	72,9
Fase 2	1.591	67,0	23,4	90,1	25,2
Fase 3	1.641	106,3	25,4	186,0	53,5
Fase 4	1.591	190,4	104,4	300,9	60,2
Fase 5	1.658	346,1	270,7	503,1	88,2
Fase 6	1.620	256,9	116,7	481,1	126,1

A Figura 9 aponta que houve relação entre a queda da degradação de matéria orgânica e os valores aplicados da relação DQO/sulfato. Nas fases de adaptação da sulfetogênese, com valores médios da relação DQO/sulfato de 17 a 7,5 nas fases 1 e 2 respectivamente, a degradação de matéria orgânica alcançou as eficiências de remoção elevadas com valores acima de 80%, diminuindo gradativamente com redução da relação DQO/sulfato nas fases de operação do reator (fases 3, 4, 5 e 6), possivelmente em função da alteração da rota

metabólica de degradação da matéria orgânica, com desvio do fluxo de elétrons para sulfetogênese e dos produtos das reações.

Figura 9 – Valores médios da eficiência de remoção de DQO comparada com a média dos valores da relação DQO/sulfato ao longo do período operacional

Valores semelhantes de remoção de matéria orgânica com diferentes relações DQO/sulfato em reator anaeróbio foram verificados por Damianovic e Foresti (2009) que observaram eficiência de remoção de matéria orgânica acima de 90% com relações DQO/sulfato de 1,4 a 3,5.

Estes elevados valores de remoção de DQO podem ser explicados pela manutenção da atividade metanogênica do reator. A presença de matéria orgânica em excesso ($DQO/sulfato > 0,67$) requereu a participação de outra rota metabólica para a conversão da matéria orgânica não removida pela via sulfetogênica. Apesar da produção de metano não ter sido quantificada, o fluxo de elétrons (Tabela 11) indicou a participação de ambas as rotas de degradação da matéria orgânica.

Tabela 11 – Eficiências de remoção médias de DQO

Parâmetros	Fases Operacionais					
	1	2	3	4	5	6
DQO/sulfato	12,5	7,5	3	1,9	1,0	0,75
DQO removida (%)	97	95	94	88	82	87
DQO removida via sulfetogênese (%)	2	4	18	30	38	38
DQO removida via metanogênese (%)	95	91	76	58	44	49

5.2.2 Comportamento do reator em relação ao sulfato

A concentração de sulfato aplicada ao longo do experimento foi aumentada gradativamente diminuindo a relação DQO/sulfato. A concentração de sulfato foi incrementada gradativamente em seis fases distintas, sendo duas fases de adaptação – fase 1 com concentração de sulfato de 120 mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ e fase 2 com concentração de sulfato de 200 mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$. Nas demais fases a concentração de sulfato continuou sendo incrementada com as seguintes concentrações – fase 3 com 500 mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, fase 4 com 800 mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, fase 5 com 1.500 mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ e fase 6 com 2.000 mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$. Os valores teóricos de concentração de sulfato afluente em cada fase e a estatística descritiva dos valores determinados pelas análises químicas em cada fase da operação do reator são apresentados na Tabela 12.

Tabela 12 – Estatística descritiva da concentração de sulfato afluente

Fases operacionais	Valor teórico	Concentração de sulfato afluente (mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$)			
		Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
Fase 1	120	99,8	50,1	199,6	44,1
Fase 2	200	203,9	177,5	235,8	19,8
Fase 3	500	560,8	497,6	698,5	52,0
Fase 4	800	883,3	825,8	938,1	36,5
Fase 5	1.500	1.506,8	1.392,4	1.615,8	94,4
Fase 6	2.000	1.916,5	1.862,6	1.992,6	44,9

A Figura 10 ilustra os resultados estatísticos obtidos durante as fases operacionais. Os resultados das concentrações de sulfato obtidos analiticamente estiveram próximos aos valores teóricos, indicando que as condições operacionais foram mantidas constantes para cada fase operacional.

Figura 10 – Gráfico da estatística descritiva da concentração de sulfato afluente

O início da sulfetogênese ocorreu nas fases 1 e 2 (partida), sendo que para essas fases foram observadas as eficiências mínimas de redução de sulfato, uma vez que o inóculo utilizado procedeu de reator UASB predominantemente metanogênico. Observa-se que o reator manteve a quantidade de sulfato removido nas fases 5 e 6 com valores de concentrações pontuais entre o mínimo de 743,9 mg SO₄²⁻.L⁻¹ e máximo de 990 mg SO₄²⁻.L⁻¹ com média de 888,2 mg SO₄²⁻.L⁻¹, mesmo com o aumento no incremento da concentração de sulfato (Figura 11). O fluxo de elétrons apresentado na Tabela 11 indica a percentagem de remoção de matéria orgânica por ambas as vias. Na fase 6, 38% de matéria orgânica removida ocorreu pela via sulfetogênica, indicando a participação efetiva das BRS no sistema.

Figura 11 – Concentrações pontuais de sulfato afluente (AF), efluente (EF) e sulfato removido (SR = AF-EF)

Nas fases operacionais 3 a 6, o fluxo de elétrons para sulfetogênese foi estabelecido, com menor limitação dos doadores de elétrons, padrão semelhante observado por Silva et al. (2002), Vossoughi et al. (2003), Silva et al. (2003), Singh et al. (2011) e Pizarro et al. (2011). Nas fases operacionais observou-se que as maiores eficiências de redução de sulfato ocorreram nas fases 3 ([DQO/sulfato]=3) e 4 ([DQO/sulfato]=1,8) com valores médios acima de 75%, com queda de eficiência de redução nas fases 5 ([DQO/sulfato]=1) e 6 ([DQO/sulfato]=0,75) com valores médios de 54,9% e 44,9% respectivamente (Tabela 13 e Figura 12).

Tabela 13 – Estatística descritiva da concentração de sulfato reduzida

Fases operacionais	Eficiência redução (%)			Desvio Padrão	Coeficiente de Variação
	Média	Mínimo	Máximo		
Fase 1	28,5%	8,5%	64,7%	16,3%	25,7%
Fase 2	50,2%	11,2%	76,0%	24,3%	42,7%
Fase 3	75,8%	37,8%	95,4%	19,0%	77,6%
Fase 4	82,4%	75,3%	91,8%	6,3%	36,9%
Fase 5	54,9%	27,4%	62,1%	12,5%	6,7%
Fase 6	44,9%	32,4%	50,3%	5,7%	5,7%

Figura 12 – Gráfico da estatística descritiva da eficiência da redução de sulfato

A sulfetogênese foi estabelecida pela pressão de seleção por incremento da concentração de sulfato, em relação à matéria orgânica aplicada, ou seja, pela redução da relação DQO/sulfato. A máxima eficiência de redução de sulfato aconteceu na fase 3 de relação DQO/sulfato aplicada igual a 3, com remoção média de 75,8% e eficiência máxima de 95,4%. Na fase 4, com relação DQO/sulfato de 1,8 observou-se aumento médio da eficiência de redução de sulfato de 82,4%, e queda na eficiência máxima para 91,8%. A partir da fase 5 de relação DQO/sulfato de 1, o nível máximo de eficiência foi de 62,3% com média de redução de 54,9%. Na fase seguinte (fase 6) de relação DQO/sulfato igual a 0,75, o reator atingiu as eficiências mais baixas de redução de sulfato com média de eficiência de redução de 44,9%, com ponto mínimo de 32,4% e máximo de 50,3% (Figura 13). O fluxo de elétrons (Tabela 12) indicou que apesar da redução na eficiência de remoção de sulfato, DQO removida via redução de sulfato foi mantida nas fases 5 e 6, indicando que o processo sulfetogênico não foi afetado pela redução da relação DQO/sulfato.

Figura 13 – Média da eficiência de redução de sulfato em comparação com a relação DQO/sulfato nas fases de operação do reator

Observa-se que à medida que a relação DQO/sulfato aproxima-se do valor 2, o reator anaeróbio apresentou maior estabilidade na redução do sulfato, indicando estabelecimento do fluxo de elétrons para redução de sulfato. Para relações DQO/sulfato menores ou iguais a 1,0, a eficiência de remoção de sulfato foi diminuída, entretanto, a sulfetogênese foi mantida como pode ser observado pela concentração de sulfato removido nas fases 5 e 6 que foi em média de $900 \text{ mg SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ (Figura 14).

Figura 14 – Eficiência de redução de sulfato em relação à taxa aplicada de DQO/sulfato com faixa de ótimo de redução

Damianovic e Foresti (2007) observaram em relações de DQO/sulfato iguais ou maiores que 2,5 até 5, que a participação das BRS oxidadoras incompletas e das arqueias metanogênicas foi claramente observada no processo de remoção de matéria orgânica. Em tais condições, os autores observaram que as altas eficiências na redução de sulfato foram alcançadas dependendo da concentração de sulfato, sendo que a redução de sulfato foi afetada quando o reator estudado foi submetido a relações DQO/sulfato iguais ou mais baixas que 1,7. Os autores concluíram que também houve instabilidade na redução de sulfato ocorrida em altas concentrações de sulfato ($2.000 \text{ mg SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$).

No presente estudo também se observou maior eficiência de redução de sulfato em relações de DQO/sulfato no intervalo de 3 a 1,8. Intervalo este que houve disponibilidade de elétrons para sulfetogênese. Na fase 4 em que a concentração afluente foi de $800 \text{ mg SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ e relação DQO/sulfato igual a 1,8, a redução de sulfato atingiu a maior média de eficiência no período de estudo com 82,4%.

5.2.3 Remoção combinada de matéria orgânica e redução sulfato

Com o aumento gradativo da concentração de sulfato no reator anaeróbio, mantendo a concentração de matéria orgânica, esperou-se que o ambiente imposto ao reator anaeróbio exercesse pressão de seleção favorecendo o crescimento das bactérias redutoras de sulfato

contra outros consórcios microbiano presentes no reator tais como as arqueias metanogênicas, até o ponto em que a redução da disponibilidade de doadores de elétrons provocasse a diminuição da redução de sulfato.

Após as fases de adaptação (fase 1 e fase 2) observou-se no reator aumento da eficiência da degradação de sulfato a partir da fase 3 e fase 4, com estabilidade na remoção de matéria orgânica, conforme apontam os dados do coeficiente de variação de 50,5% na fase 3, diminuindo para 31,6% na fase 4 e com 25,4% na fase 5, tendo aumento na fase 6 com 49,1%. Na fase 5 com o aumento da concentração afluyente de sulfato observou-se diminuição da redução de sulfato e na degradação de matéria orgânica. Logo após na fase 6 com novo aumento da concentração de sulfato, a degradação deste composto teve os índices de redução menores que na fase 5, no entanto observou-se aumento da degradação de matéria orgânica com nível médio de remoção de 84,4% de eficiência (Figura 15).

Figura 15 – Comparação entre a relação DQO/sulfato com as eficiências de remoção de matéria orgânica e redução de sulfato

Mulopo et al (2011) em estudo realizado com reatores anaeróbios com adição de sulfato e DQO na forma de celulose descreveram que a degradação de matéria orgânica não seguiu unicamente pela rota metanogênica, mas utilizaram outras rotas de degradação como a rota sulfetogênica, e/ou rotas de degradação metanogênica e sulfetogênica combinadas.

Na fase 3, observou-se que com o estabelecimento da sulfetogênese houve pequena diminuição na remoção de matéria orgânica, seguindo para a fase 4 (de 93,6% para 88,4% de eficiência, respectivamente). Essa redução pode estar associada à competição por doadores de

elétrons, embora a disponibilidade, do ponto de vista estequiométrico, pareceu suportar ambas as reações metanogênica e sulfetogênica. A queda da eficiência de redução de sulfato observadas nas fases 5 e 6 deve-se provavelmente ao declínio da disponibilidade de elétrons, resultado da competição com as arqueias metanogênicas em relações DQO/sulfato mais baixas. Conforme apresentado por Damianovic e Foresti (2006), o requerimento de doadores de elétrons (DQO/sulfato) para sulfetogênese realizada por BRS oxidadoras incompletas de etanol é de aproximadamente de 1,92 (DQO/sulfato), superior ao determinado nas fases 5 e 6.

Com o aumento gradativo da concentração de sulfato observou-se o aumento na produção média de sulfeto de hidrogênio para as fases 2, 3, 4 e 5. Outra hipótese para o declínio da sulfetogênese é o possível efeito inibitório do sulfeto no metabolismo das bactérias redutoras de sulfato. No presente estudo foi observado que na fase 6 quando ocorreu decréscimo da concentração de sulfeto de hidrogênio, houve aumento da atividade metanogênica no reator em relação à fase 5, uma vez que a atividade sulfetogênica foi mantida (Figura 16).

Figura 16 – Média da eficiência de remoção de matéria orgânica e redução de sulfato relacionada com a produção média de sulfeto biogênico

As fases 4 e 5 foram fases com maiores médias na produção de sulfeto de hidrogênio, com médias de $228 \text{ mg H}_2\text{S.L}^{-1}$ e $246 \text{ mg H}_2\text{S.L}^{-1}$ respectivamente. Em ambas as fases, as concentrações de sulfeto determinadas foram próximas ao potencial gerado pelo sulfato reduzido, indicando que o sulfato reduzido encontrava-se principalmente na forma de sulfeto (Tabela 14).

Tabela 14 – Estatística descritiva da concentração de sulfeto produzido biogenicamente

Fases operacionais	Concentração média de sulfato (mg SO ₄ ²⁻ .L ⁻¹)			Desvio padrão	Concentração de sulfeto no efluente (mg H ₂ S.L ⁻¹)			Desvio padrão
	Afluente	Efluente	Removido		Mínimo	Máximo	Média	
Fase 1	99,8	65,6	34,2	16,9	3	18	11	5,4
Fase 2	203,9	98,7	105,2	42,1	45	60	52	5,2
Fase 3	560,8	134,3	426,5	104,3	105	197	136	25,6
Fase 4	883,3	155,2	728,1	57,4	179	259	228	31,0
Fase 5	1.506,8	607,1	899,7	199,4	136	373	246	76,8
Fase 6	1.916,5	1.037,2	879,3	118,8	112	367	174	80,5

O valor mínimo da produção de sulfeto de hidrogênio foi obtido na fase 1 com valor de 3 mg H₂S.L⁻¹, associado à baixa atividade sulfetogênica requerendo adaptação do inóculo para a realização da sulfetogênese. No entanto os picos de valores máximos mensurados ocorreram nas fases 5 com valor de 373 mg H₂S.L⁻¹ e na fase 6 com valor de 367 mg H₂S.L⁻¹ (Figura 17).

Figura 17 – Gráfico da estatística descritiva da geração de sulfeto de hidrogênio produzido biogenicamente

A remoção de sulfato indica manutenção da atividade sulfetogênica, que não seguiu a proporcionalidade em relação ao aumento de concentração, possivelmente devido à limitação de elétrons. A determinação em algumas amostras de concentrações de sulfeto abaixo do estequiometricamente previsto (próximo a 300 mg H₂S.L⁻¹) sugere que compostos sulfurosos em estado intermediário de oxidação (sulfito e/ou tiosulfato) foram formados (Figura 18).

Figura 18 – Média das concentrações de sulfato (afluente e efluente) e geração do sulfeto produzido biogenicamente pela redução do sulfato

Observou-se relação positiva entre a produção de sulfeto de hidrogênio biogênico e o aumento da concentração de sulfato até a fase 5. A partir da concentração de sulfeto de hidrogênio acima de 200 mg H₂S.L⁻¹ (fase 4 e fase 5), houve queda na eficiência da redução de sulfato (Figura 19a) concomitantemente queda na eficiência de remoção de matéria orgânica nas mesmas duas fases descritas (Figura 19b).

Figura 19 – Eficiências de remoção e geração de sulfeto biogênico a) média da eficiência de redução de sulfato b) média de eficiência de remoção de DQO

No presente estudo, observou-se aumento gradativo na concentração de sulfeto atingindo valores médios de 246 mg $\text{H}_2\text{S.L}^{-1}$ na fase 5 e média de 228 mg $\text{H}_2\text{S.L}^{-1}$ na fase 4. A remoção de DQO foi de 79% e 88% respectivamente para as fases 5 e 6. Na fase 6 com concentração média de sulfeto de hidrogênio de 174 mg $\text{H}_2\text{S.L}^{-1}$, a diminuição da eficiência de redução de sulfato esteve associada principalmente à redução da relação DQO/sulfato, associada à redução da disponibilidade de elétrons para a reação de redução de sulfato. Entretanto, observou-se aumento na eficiência de remoção de DQO em relação à fase anterior, possibilitando propor a hipótese de inibição das arqueias metanogênicas pelo sulfeto.

O dado apontando anteriormente remete a toxicidade do sulfeto de hidrogênio produzido biogenicamente, inibindo a atividade das comunidades anaeróbias presentes no reator, incluindo nesse grupo o consórcio de bactérias redutoras de sulfato. Entretanto, as estimativas de número mais provável (NMP) realizadas no inóculo e ao fim da operação do reator semelhantes (Tabela 14) indicaram que praticamente não houve alterações na quantidade estimada dos organismos nos consórcios microbianos. O sulfeto produzido biogenicamente pela degradação de sulfato parece não ter afetado a quantificação das comunidades microbianas, possivelmente devido à formação do biofilme em que as bactérias se aderem e formam colônias.

Tabela 15 – Resultados obtidos para estimativa de organismos nas amostras por NMP

Consórcios microbianos	Inóculo	Fase final de operação
	(NMP.100ml ⁻¹)	
Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS)	17 x 10 ⁵	24 x 10 ⁵
Arqueias Metanogênicas (AM)	14 x 10 ⁴	17 x 10 ⁴
Bactérias Anaeróbias Totais	24 x 10 ⁷	24 x 10 ⁷

No RAHLF os microrganismos encontram-se imobilizados em material suporte, o que pode contribuir para a proteção dos organismos frente à exposição ao sulfeto de hidrogênio produzido biogenicamente (DAMIANOVIC et al., 2006).

Dados da literatura apontam que uma ampla variedade de substâncias inibidoras são a causa primária dos distúrbios ou colapsos da digestão anaeróbia, desde que estas substâncias estejam presentes em concentrações tóxicas nas águas residuárias.

Estudo relatado por Hulshoff Pol et al. (2001) observaram a inibição por sulfeto de hidrogênio produzido biogenicamente no processo de tratamento anaeróbio de águas residuárias enriquecidas com sulfato, podendo levar o mesmo ao colapso total do processo de tratamento.

Kaksonen et al. (2004) estudaram os efeitos inibitórios do sulfeto sobre a oxidação do etanol e do acetato utilizados como doadores de elétrons para o sulfato. Os autores observaram que a relação entre a concentração de sulfeto e a degradação do substrato não foi linear e ainda a degradação do substrato não foi completamente inibida, mesmo em concentrações de sulfeto superiores $124 \text{ mg H}_2\text{S.L}^{-1}$.

A inibição parcial da metanogênese nas fases 4, 5 e 6 pode estar associada à inibição relacionada ao sulfeto, entretanto, dados da literatura não permitem estabelecer valores para sua ocorrência. A principal razão pelas variações de concentrações consideradas tóxicas pode ser explicada pela complexidade do processo de digestão anaeróbia, em que os mecanismos e estratégias utilizados pelos microrganismos envolvidos tais como antagonismos, sinergia e aclimatação poderiam afetar significativamente os fenômenos de inibição. Vários autores relatam a inibição de vários grupos de bactérias em decorrência da toxicidade do sulfeto produzido biogenicamente, incluindo nestes o grupo das arqueias metanogênicas em concentrações a partir de $165 \text{ mg H}_2\text{S.L}^{-1}$ (OUDE ELFERINK et al., 1994; COLLERAN et al., 1995; COLLERAN et al., 1998).

Bekmezci et al. (2011) relatam que a toxicidade do sulfeto sobre as bactérias redutoras de sulfato afetam a eficiência do reator, entretanto observaram adaptação das mesmas. Estes resultados possivelmente explicariam o aumento da remoção de matéria orgânica na fase 6, pela adaptação dos organismos as condições de toxicidade do sulfeto.

Koster et al. (1986) relatam que o efeito tóxico do sulfeto na atividade metanogênica acetoclástica é estritamente dependente da faixa de pH. Na faixa de pH de 6,4 a 7,2 existe correlação entre a concentração de sulfeto de hidrogênio ionizado e a máxima atividade metanogênica acetoclástica, no entanto em faixa de pH de 7,8 a 8,0 a atividade máxima metanogênica acetoclástica decai rapidamente com o incremento do sulfeto de hidrogênio.

Para avaliar esse efeito tóxico do sulfeto em relação ao pH, este parâmetro foi mensurado logo após a coleta das amostras do afluente e do efluente no reator. O hidróxido de sódio foi adicionado à água residuária sintética para correção do pH e o tamponamento do meio ocorreu pelo equilíbrio do processo anaeróbio. Para o pH do efluente, 70% do sulfeto produzido biogenicamente encontrava-se na fase aquosa, enquanto o restante (30%) estava na

fase gasosa, de acordo com o gráfico de especiação do sulfeto de Hidrogênio e sua constante de equilíbrio do HS^- em relação ao pH (Figura 4). Os resultados apontaram que o pH do reator anaeróbio variou entre 9,1 a 11,2 para o afluente e de 6,6 a 8,6 no efluente, sendo na maior parte do período experimental esteve entre 7,5 e 8,0 (Figura 20).

Figura 20 – Determinação do potencial Hidrogeniônico do reator no afluente e efluente durante as fases experimentais

Valores de pH abaixo de 7 somados com temperaturas entre 15°C a 30°C, aumentam a formação de sulfeto de hidrogênio molecular, causando toxicidade aos organismos envolvidos na degradação de sulfato. A acumulação de sulfeto de hidrogênio pode resultar em inibição do processo de tratamento, podendo também causar uma falha total deste processo. O efeito inibitório do sulfeto de hidrogênio no processo de degradação do sulfato pode ser presumido pelo fato que uma molécula neutra possa se difundir através da membrana celular. O sulfeto de Hidrogênio interfere no metabolismo assimilatório do enxofre, enquanto possivelmente deve afetar o pH intracelular (HULSHOFF POL et al., 2001). No presente estudo, a temperatura em torno de 30°C e o pH acima de 7 contribuíram para minimizar os efeitos tóxicos do sulfeto de hidrogênio.

Hulshoff Pol et al. (2001) relatam que a toxicidade do sulfeto em relação à remoção de sulfato torna as conclusões gerais sobre os níveis de toxicidade difíceis, uma vez que sulfeto em determinadas concentrações de pH reage rapidamente com a maioria dos metais pesados para formar sulfetos metálicos insolúveis, sendo que a toxicidade do sulfeto também pode estar relacionada com as concentrações de metais no lodo gerado do fim do tratamento anaeróbio.

Estudos realizados por Visser et al. (1993) com condições termofílicas ($\pm 55^{\circ}\text{C}$) e mesofílicas ($\pm 30^{\circ}\text{C}$), mostraram que biomassa imobilizada é menos inibida pelo sulfeto de hidrogênio do que a biomassa suspensa em valores de pH entre 6 e 7, enquanto que em valores para pH acima de 7 a inibição foi reduzida. Em lodos com biomassa suspensa a inibição é determinada pela concentração do sulfeto de hidrogênio, tanto para ambos os valores de alto e de baixo pH, enquanto para biomassa imobilizada é determinada em função de sulfeto total.

No presente estudo os valores da alcalinidade parcial e total, no efluente do reator anaeróbio estão relacionados com a elevação dos valores de sulfeto, gradativamente aumentados ao longo das fases de operação do reator, vez que a sulfetogênese produz a liberação de hidroxilas (Equação 24 e Figura 21a). Segundo Hulshoff Pol et al., (2001) a sulfetogênese é um processo gerador de alcalinidade devido ao uso do hidrogênio como doador de elétrons no reator pelas BRS.

Os resultados apresentados indicaram a geração de alcalinidade no RAHLF. Os valores da alcalinidade parcial e total no afluente se mostraram estáveis ao longo do experimento, enquanto para o efluente os valores tiveram aumento nas fases operacionais em que houve incremento de sulfato, sendo que este aumento da alcalinidade foi proporcional ao aumento da remoção de sulfato (Figura 21a).

A relação AI/AP média foi de 0,29, com valor mínimo de 0,23 e máximo de 0,38. Esta relação indicou que o sistema foi estável durante a fase experimental (Figura 21b). De acordo com Ripley (1986) valores de AI/AP superiores a 0,3 indicam a ocorrência de distúrbios no processo de digestão anaeróbia. No entanto, há relatos que é possível ocorrer estabilidade no processo com valores diferentes de 0,3, devido às variações e características únicas de cada efluente estudado (VOUSSOGHI et al., 2003; SINGH et al., 2011; PIZARRO et al., 2011), como observado neste estudo.

a)

b)

Figura 21 – Resultados de alcalinidade a) alcalinidade parcial e intermediária (afluente e efluente) b) relação AI/AP

Estudo realizado por Cadavid et al. (1999) tratando água residuária sintética com diferentes concentrações da relação DQO/sulfato em reator anaeróbico horizontal de leito fixo com biomassa imobilizada, apontou que em concentração de sulfato de $500 \text{ mg SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ ocorreu aumento da alcalinidade, combinada com a redução de sulfato e geração de sulfeto de hidrogênio.

Silva et al. (2002) em estudo com reatores anaeróbios de leito fluidizado tratando água residuárias industriais enriquecidas com sulfato encontraram valores de alcalinidade a bicarbonato com média de $833 \pm 299 \text{ mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$, atribuídas à produção de sulfeto de hidrogênio no efluente pela conversão do sulfato.

Kaksonen et al. (2004) no estudo com reator de leito fixo relacionando a oxidação do etanol e do acetato na redução de sulfato, observaram que a oxidação sulfetogênica do etanol e do ácido láctico produziram alcalinidade. No primeiro passo o ácido láctico foi convertido a acetato e na completa oxidação do ácido láctico ocorreu a formação de 3 moles de alcalinidade por mol de substrato.

Assim para este estudo avaliou-se a geração de ácido acético a partir da conversão anaeróbia do etanol. Sendo o etanol adicionado como única fonte de carbono (Figura 22).

Figura 22 – Análise estatística de *boxplot* de ácido acético gerado pela conversão do etanol

As concentrações de ácido acético foram menores que 30 mg.L^{-1} no efluente do reator em todas as condições estudadas, indicando equilíbrio entre a produção e consumo deste ácido orgânico.

Damianovic et al. (2006) em estudo realizado com reator anaeróbio de leito fixo com biomassa imobilizada observaram aumento na concentração de metabólitos intermediários concomitantemente à redução de sulfato e creditaram o aumento na concentração de ácido acético, produzido a partir da sulfetogênese com etanol como doador de elétrons por BRS oxidadoras incompletas.

A relação entre doadores de elétrons e o crescimento da atividade das BRS também foi relatada por Cao et al. (2012). Os autores *op. cit.* apontaram a utilização de ácidos orgânicos incluindo o ácido acético, ácido propiônico, ácido láctico, ácido málico e ácido pirúvico pelas BRS. Os resultados obtidos por estes autores demonstraram que a redução de sulfato foi influenciada pelos diferentes ácidos orgânicos que atuaram como doadores de elétrons. O ácido fórmico possibilitou a redução mais rápida do sulfato. Segundo estes autores, a produção de acetato durante a redução biológica de sulfato conferiu desvantagem ao processo sulfetogênico, visto que as BRS não puderam oxidar completamente o acetato, mesmo que com o excesso nas concentrações de sulfato. O ácido acético restante também contribuiu significativamente na concentração de DQO residual no efluente. Os autores concluíram que houve relação entre o desempenho do reator e os doadores de elétrons disponíveis para a atividade microbiana e que o acetato foi utilizado lentamente pelas BRS, enquanto o ácido fórmico foi prontamente utilizado com eficiência de redução de sulfato pelas BRS.

Para verificar a estabilidade do desempenho do reator e a relação com a disponibilidade dos doadores de elétrons foi realizada a análise estatística de *boxplot* para a concentração de DQO, sulfato e sulfeto de hidrogênio, apurados no efluente do reator anaeróbio no período experimental (fases 1, 2, 3, 4, 5 e 6).

Observou-se que a estatística de *boxplot* não apresentou valores de *outliers*, ou seja, todos os dados obtidos durante o período experimentais estão incorporados nos limites estatísticos de mínimo e máximo, indicando que o reator respondeu aos estímulos de cada fase (Figura 23).

Figura 23 – *Boxplot* dos dados obtidos na degradação de matéria orgânica e sulfato pelas vias metanogênica e sulfetogênica combinadas e a geração de sulfeto de hidrogênio biogênico no reator anaeróbio (DQO: mg O₂.L⁻¹; Sulfato: mg SO₄²⁻.L⁻¹; Sulfeto: mg H₂S.L⁻¹)

Na fase 1, a análise estatística de *boxplot* demonstrou que houve eficiência na degradação de matéria orgânica na fase de adaptação da sulfetogênese no sistema anaeróbio, no entanto a redução de sulfato foi marginal em toda a fase. A variação na remoção de DQO está associada à adaptação do inóculo às novas condições de substrato e ambientais.

Na fase 2, houve aumento da estabilidade de remoção de matéria orgânica, conforme apontam os dados de efluente final desta fase e aumento na eficiência de redução de sulfato, com concentração de sulfato no efluente variável, indicando que esta foi fase de adaptação à sulfetogênese.

Na fase 3, observou-se que a degradação de matéria orgânica ocorreu com menos estabilidade do que nas duas fases anteriores, no entanto a degradação de sulfato apresentou mais estabilidade, deslocando a média da fase 3, fase esta que a sulfetogênese foi estabelecida.

Na fase 4, apesar da maior eficiência média de remoção de DQO e redução de sulfato, observou-se maior discrepância em relação às médias de concentração de DQO e sulfato no efluente e sulfeto produzido, em comparação as fases antecessoras.

Observou-se na fase 5 queda na degradação de sulfato em relação às fases anteriores sendo que a mediana para esta fase aponta que 50% da concentração de sulfato não foi removido, nesta fase aplicou-se concentração de sulfato de 1.500 mg SO₄²⁻.L⁻¹.

Na fase 6, observou-se maior variabilidade na eficiência de redução de sulfato comparado às outras fases avaliadas. Outro dado importante apontado pelo resultado estatístico foi que a remoção de matéria orgânica ocorreu da forma mais instável em comparação as outras fases de remoção de DQO e a geração de sulfeto, no entanto, teve decréscimo em relação à concentração apontada na fase anterior. No geral, a fase 6 foi a mais instável em relação à remoção combinada de matéria orgânica e redução de sulfato.

5.2.4 Perfil espacial de concentrações no reator

No final de cada fase operacional realizou-se perfil espacial das concentrações de DQO, sulfato e sulfeto, no afluente, ao longo das portas de amostragem do reator (Portas L4, L8, L12 e L16) e efluente. As análises foram realizadas em duplicata.

O objetivo desta etapa foi avaliar as remoções de matéria orgânica e redução de sulfato ao longo do reator e levantar hipótese sobre a ocorrência simultânea ou sequencial da sulfetogênese e metanogênese em reatores biológicos.

Observou-se primeiramente na análise do perfil espacial das concentrações do reator que, a atividade sulfetogênica aconteceu principalmente na primeira seção do reator, ou seja, do afluente até a primeira porta de amostragem (L4); e que a degradação de matéria orgânica ocorreu ao longo de toda a extensão do reator, com taxa de remoção de DQO praticamente constante.

A reoxidação parcial do sulfeto a sulfato, observada em algumas fases operacionais possivelmente esteve associada ao aporte indesejado de oxigênio, característica do reator utilizado.

Figura 24 – Perfil de concentrações do reator anaeróbio a) Fase 2, b) Fase 3, c) Fase 4, d) Fase 5, e) Fase 6

No perfil espacial da fase 2 com concentração teórica de sulfato de $200 \text{ mg SO}_4^{2-}.\text{L}^{-1}$ (Figura 24a) o decréscimo da concentração de sulfato ocorreu principalmente do afluentes até a primeira porta de amostragem (L4), diminuindo a concentração de $236,2 \text{ mg SO}_4^{2-}.\text{L}^{-1}$ para $38,5 \text{ mg SO}_4^{2-}.\text{L}^{-1}$, ou seja, eficiência de redução de 83%. No próximo trecho de L4 a L8 a redução de sulfato prosseguiu até a concentração de $13,3 \text{ mg SO}_4^{2-}.\text{L}^{-1}$. A partir do ponto de amostragem L12 detectou-se aumento da concentração de sulfato em $38,0 \text{ mg SO}_4^{2-}.\text{L}^{-1}$

possivelmente ocorrida por caminhos preferenciais no reator ou oxidação do sulfeto. A geração de sulfeto de hidrogênio se manteve estável (não foram encontradas variações significantes) com geração média de $61,1 \text{ mg H}_2\text{S.L}^{-1}$. A remoção de matéria orgânica ocorreu ao longo do reator com concentração final de $50,6 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$ para o efluente em termos de DQO.

No perfil espacial da fase 3 com concentração teórica de sulfato de $500 \text{ mg SO}_4^{2-}\text{.L}^{-1}$ (Figura 24b), observou-se que as reações de redução do sulfato ocorreram principalmente do afluente para a porta de amostragem L4, com concentração de sulfato de $39,5 \text{ mg SO}_4^{2-}\text{.L}^{-1}$, ou seja, redução de aproximadamente 93% nesse intervalo. Observou-se a redução de sulfato em toda a extensão do reator, com as seguintes concentrações (L8: $35,8 \text{ mg SO}_4^{2-}\text{.L}^{-1}$; L12: $33,5 \text{ mg SO}_4^{2-}\text{.L}^{-1}$ e L16: $11,1 \text{ mg SO}_4^{2-}\text{.L}^{-1}$). No efluente houve pequena oxidação do sulfeto a sulfato com concentração de $22,8 \text{ mg SO}_4^{2-}\text{.L}^{-1}$. O sulfeto apresentou concentrações médias nas portas de amostragem de $30 \text{ mg H}_2\text{S.L}^{-1}$. A remoção de matéria orgânica como na fase anterior também ocorreu ao longo da extensão do reator, alcançando concentração final de $63,8 \text{ mg O}_2\text{.L}^{-1}$, o que equivale a 96,2% de eficiência de remoção de matéria orgânica expressos como DQO.

Para o perfil da fase 4 com concentração teórica de sulfato de $800 \text{ mg SO}_4^{2-}\text{.L}^{-1}$ (Figura 24c) a redução de sulfato não aconteceu tão rapidamente na porta de amostragem L4 ($183,8 \text{ mg SO}_4^{2-}\text{.L}^{-1}$) com eficiência de redução em torno de 78%, sendo que a remoção continuou para a porta de amostragem seguinte – porta L8 – com concentração de sulfato em $31,8 \text{ mg SO}_4^{2-}\text{.L}^{-1}$, ou seja, porcentagem de redução de 83% de eficiência, mantendo a média para as portas de amostragem seguintes (L12 e L16) havendo oxidação na saída do efluente com concentração média de $87,1 \text{ mg SO}_4^{2-}\text{.L}^{-1}$. O nível de sulfeto de hidrogênio manteve-se estável, não havendo alterações significativas, com concentração média de $194,4 \text{ mg H}_2\text{S.L}^{-1}$ mesmo com a maior redução de sulfato na porta L8. Para a matéria orgânica observou-se que da porta L4 para a porta L8 não houve intensa atividade metanogênica, diminuindo a DQO em média de 23%, ocorrendo maior atividade metanogênica a partir da porta L12, comprovando mais uma vez a sintrofia entre as bactérias redutoras de sulfato fornecendo substratos para as arqueias metanogênicas.

No perfil espacial da fase 5 com concentração teórica de sulfato de $1.500 \text{ mg SO}_4^{2-}\text{.L}^{-1}$ (Figura 24d) observou-se intensa atividade das BRS na porta de amostragem L4, reduzindo o sulfato em 93% ($98,1 \text{ mg SO}_4^{2-}\text{.L}^{-1}$). Após esta intensa atividade ao longo das portas de amostragem seguintes houve oxidação de sulfato, sendo a concentração final de sulfato de $234,6 \text{ mg SO}_4^{2-}\text{.L}^{-1}$, bem acima da porta L4 de maior nível de intensidade microbiana. A

produção de sulfeto de hidrogênio teve pequena diminuição comparada aos outros perfis das fases estudadas. Para esta fase o perfil do sulfeto de hidrogênio foi mensurado em média de 141,5 mg $\text{H}_2\text{S} \cdot \text{L}^{-1}$. A remoção de DQO como na fase anterior ocorreu gradativamente ao longo das portas de amostragem, com concentração no efluente de 160,9 mg $\text{O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$, com eficiência total de remoção de matéria orgânica de 91%.

No perfil da fase 6 de concentração teórica de sulfato de 2.000 mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ (Figura 24e) a redução de sulfato ocorreu com menor eficiência para a porta de amostragem L4 com concentração de 840,8 mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, com 47% de eficiência de redução de sulfato, mantendo essa concentração até o efluente (porta L8: 760,7 mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, porta L12: 816,4 mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, porta L16: 765,4 mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ e efluente: 808,0 mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$). Neste perfil de concentrações foram observadas as menores eficiências da sulfetogênese entre as fases operacionais. Ainda neste perfil a degradação de DQO obteve o nível de degradação mais linear de todos os outros perfis das fases analisadas, tendo eficiência final de remoção de matéria orgânica de 80,5%. Neste perfil foram observadas concentrações de sulfeto de hidrogênio, com médias de 93,3 mg $\text{H}_2\text{S} \cdot \text{L}^{-1}$.

6 CONCLUSÕES

As variações das concentrações de sulfato e da relação DQO/sulfato impostas acarretaram diferenças no desempenho do reator quanto à remoção de matéria orgânica (DQO) e sulfato.

A avaliação de relações DQO/sulfato variando de 0,75 a 12,5, ou seja, abaixo e acima das estequiometricamente determinadas para que a matéria orgânica seja degradada pela via sulfetogênica, mostrou que a maior eficiência de remoção de sulfato foi obtida quando a relação DQO/sulfato foi próxima a 3. O acréscimo na concentração de sulfato até 500 mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ não acarretou redução na eficiência de remoção de DQO. Para concentrações de sulfato de 800 mg $\text{SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ ou maiores observou-se redução na remoção de DQO.

A eficiência do reator na remoção de matéria orgânica foi associada ao sintrofismo entre a atividade metanogênica e sulfetogênica. No entanto, ocorreu competição entre arqueias metanogênicas e BRS quando houve um declínio na quantidade de doadores de elétrons disponíveis (relações DQO/sulfato menores ou iguais a 1,0). Nesta condição a sulfetogênese foi mantida e a metanogênese prejudicada.

O sulfeto produzido biogenicamente foi apontado como inibidor da metanogênese, visto que quando houve aumento de sulfeto, ocorreu decréscimo da eficiência da metanogênese, no entanto, quando houve decréscimo do sulfeto, a metanogênese se reestabeleceu.

O RAHLF foi adequado para o estudo da remoção combinada de matéria orgânica e sulfato, permitindo verificar que a redução de sulfato a sulfeto ocorreu inicialmente, seguida da remoção da matéria orgânica.

7 SUGESTÕES

A realização de perfis de concentrações dos principais metabólitos das reações de redução de sulfato e degradação da matéria orgânica ao longo do RAHLF pode contribuir para a interpretação das relações entre a sulfetogênese e a metanogênese.

Estudos aprofundados dos organismos e suas características microbiológicas contribuirão para melhor compreensão dos microrganismos ativos na degradação combinada de matéria orgânica e sulfato, auxiliando no esclarecimento das rotas metabólicas.

Técnicas avançadas de biologia molecular poderão esclarecer a lacuna existente sobre a pressão de seleção exercida pelas concentrações de sulfato e a capacidade de elasticidade do reator quanto toxicidade do sulfeto biogênico produzido pela degradação do sulfato, de modo a melhorar o processo de remoção combinada de matéria orgânica e redução de sulfato.

Técnicas recentes de PCR em tempo real (*Real-Time Polymerase Reaction Chain*) poderão auxiliar na contagem mais precisa dos organismos envolvidos no tratamento.

REFERÊNCIAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WATER ENVIRONMENT FEDERATION – APHA; AWWA; WEF (2005) **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21st edition, Washington, 1CD ROM.

BEKMEZCI, O.K.; UCARA, D.; KAKSONENB, A.H.; SAHINKAYAA, E. (2011) **Sulfidogenic biotreatment of synthetic acid mine drainage and sulfide oxidation in anaerobic baffled reactor**. Journal of Hazardous Materials, vol. 189, 670–676p.

BUISMAN, C.; JSSPERT, I.; JANSSEN, A.; LETTINGA, G. (1990) **Kinetics of chemical and biological sulphide oxidation in aqueous solutions**. Water Research, vol. 24, n.5, 667-671.

BUSSAB, W.O.; MORETTIN, P.A. (2011) **Estatística básica**. Editora Saraiva, 7^a edição, São Paulo – SP, 540p.

CADAVID, L.D.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. (1999) **Performance of horizontal flow anaerobic immobilized sludge (HAIS) reactor treating synthetic substrate subjected to decreasing COD to sulphate ratios**. Water Science and Technology, vol. 39, 99–106p.

CALKINS, W. (1993) **The chemical forms of sulfur in coal: a review**. Fuel, vol. 73, n. 4, Butterworth-Heinemann, 475-484p.

CAO H.; ZHANG, H.; LUO, D.; CHEN, Y. (2011) **Effect of COD/sulphate ratios on batch anaerobic digestion using sulphate-reduction bacteria**. 5th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering (iCBBE).

CAO, J.; ZHANG, G.; MAO, Z.; LI, Y.; FANG, F.; CHAO, Y. (2012) **Influence of electron donors on the growth and activity of sulphate-reducing bacteria**. International Journal of Mineral Processing, n. 106-109, 58–64p.

CATTONY, E.B.M.; ZAIAT, M.; VARESCHE, M.B.A. (2003) **Avaliação da Sulfetogênese em reatores de batelada com células planctônicas**. XIV Simpósio Nacional de Fermentações SINAFERM, Florianópolis Santa Catarina.

CHAIPRAPAT, S.; PREECHALERTMIT, P.; BOONSAWANG, P.; KARNCHANAWONG, S. (2011) **Sulfidogenesis in pretreatment of high-sulphate acidic wastewater using anaerobic sequencing batch reactor and upflow anaerobic sludge blanket reactor**. Environmental Engineering Science, vol. 28, n. 8, 597-604p.

COLLERAN, E.; FINNEGAN, S.; LENS, P. (1995) **Anaerobic treatment of sulphate-containing waste streams**. Antonie Van Leeuwenhoek, vol. 67, n.1, 29–46p.

COLLERAN, E.; PENDER, S.; PHIPOTT, U.; O'FLAHERTY, V.; LEAHY, B. (1998) **Full-scale and laboratory-scale anaerobic treatment of citric acid production wastewater**. Biodegradation, n. 9, 233–245p.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO – CETESB (1978) **Determinação de sulfeto em águas: método do azul de metileno**. Norma Técnica L5.127, disponível em <<http://www.cetesb.sp.gov.br/servicos/normas---cetesb/43-normas-tecnicas---cetesb>> acesso em 17/08/2011.

DAMIANOVIC, M.H.R.Z.; SAKAMOTO, I.K.; FORESTI, E. (2006) **Biofilm adaptation to sulphate reduction in anaerobic immobilized biomass reactors subjected to different COD/sulphate ratios**. Water Science and Technology, vol. 54, n. 2, 119-126p

DAMIANOVIC, M.H.R.Z.; FORESTI, E. (2007) **Anaerobic degradation of synthetic wastewater at different levels of sulphate and COD/sulphate ratios in horizontal-flow anaerobic reactors (HAIB)**. Environmental Engineering Science, vol. 24, n. 3, 383-393p.

DAMIANOVIC, M.H.R.Z.; FORESTI, E. (2009) **Dynamics of sulfetogenesis associated to methanogenesis in horizontal-flow anaerobic immobilized biomass reactor**. Process Biochemistry, n. 44, 1050-1054p.

DAR, S.A.; KLEEREBEZEM, R.; STAMS, A.J.M.; KUENEN, J.G.; MUYZER, G. (2008) **Competition and coexistence of sulphate-reducing bacteria, acetogens and methanogens in a lab-scale anaerobic bioreactor as affected by changing substrate to sulphate ratio**. Applied Microbiology Biotechnology, n. 78, 1045-1055p.

DHAKED, R.K.; SINGH, P.; SINGH, L. (2010) **Biomethanation under psychrophilic conditions**. Waste Management, N. 30, 2490–2496P.

ESPOSITO G.; FRUNZO, L.; LIOTTAL, F.; PANICO, A.; PIROZZI, F. (2012) **Bio-methane potential tests to measure the biogas production from the digestion and co-digestion of complex organic substrates**. The Open Environmental Engineering Journal, vol. 5, 1-8p.

FORESTI, E.; ZAIAT, M.; CABRAL A.K.A.; DEL NERY, V. (1995) **Horizontal-flow anaerobic immobilized sludge (HAIS) reactor for paper industry wastewater treatment.** Brazilian Journal of Chemistry Engineering, vol. 12, n. 4, 235-239p.

GENSCHOW, E.; WERNER, H.; MASCHKE, C. (1996) **Biological sulphate removal from tannery wastewater in a two-stage anaerobic treatment.** Water Researchs, vol. 30, n. 9, 2072-2078p.

HARADA, H.; UEMURA, S.; MOMONOI, K. (1994) **Interaction between sulphate-reducing bacteria and methane-producing bacteria in UASB reactors fed with low strength wastes containing different levels of sulphate.** Water Researchs, vol. 28, n. 2, 355-367p.

HIRASAWA, J. S. (2003) **Avaliação da comunidade microbiana anaeróbia em reator sulfetogênico utilizando a hibridação in situ com sondas fluorescentes (FISH).** Dissertação (Mestrado) Departamento de Engenharia Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo – EESC/USP, São Carlos, SP, 82p.

HULSHOFF POL, L.W.; LENS, P.N.L.; WEIJMA, J.; STAMS, A.J.M. (2001) **New developments in reactor and process technology for sulphate reduction.** Water Science and Technology, n. 44, 67-76p.

KAKSONEN, A.H.; FRANZMANN, P.D.; PUHAKKA, J.A. (2004) **Effects of hydraulic retention time and sulfide toxicity on ethanol and acetate oxidation in sulphate-reducing metal-precipitating fluidized-bed reactor.** Wiley Periodicals, InterScience, 332-343p. disponível em <<http://www.interscience.wiley.com>>, acesso em 27.06.2012.

KOSTER, I.W.; RINZEMA, A.; DE VEGT, A.L.; LETTINGA, G. (1986) **Sulfide inhibition of the methanogenic activity of granular sludge at various pH-levels.** Water Research, vol. 20, no. 12, 1561-1567p.

LAZARO, C.Z. (2009) **Obtenção e caracterização filogenética de consórcio de bactérias fototróficas púrpuras não sulfurosas consumidoras de ácidos orgânicos visando a produção de hidrogênio em reator anaeróbio de batelada.** Dissertação (Mestrado) Departamento de Engenharia Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo – EESC/USP, São Carlos, SP, 127p.

LENS, P. N. L.; VISSER, A.; JANSSEN, A. J. H.; HULSHOFF POL, L. W.; LETTINGA, G. (1998) **Biotechnological treatment of sulphate-rich wastewaters.** Critical Reviews in Environmental Science and Technology, n. 28, vol. 1, 41–88p.

LENS, P.; VALLERO, M.; ESPOSITO, G.; ZANDVOORT, M. (2002) **Perspectives of sulphate reducing bioreactors in environmental biotechnology**. Reviews in Environmental Science and Biotechnology, n. 1, Kluwer Academic Publishers, 311–325p.

LI, L.; WANG, J.; LUAN, Z.; JI, Z.; YU, L. (2012) **Biological sulphate removal from acrylic fiber manufacturing wastewater using a two-stage UASB reactor**. Journal of Environmental Sciences, vol. 24, n. 2, 343–350p.

LU, H.; WU, D.; JIANG, F.; EKAMA, G.A.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M.; CHEN, G.H. (2012) **The demonstration of a novel sulfur cycle-based wastewater treatment process: Sulphate reduction, autotrophic denitrification, and nitrification integrated (SANI®) biological nitrogen removal process**. Biotechnology Bioengineering, Wiley Periodicals, Inc. n. 43, 2363–2372p.

MAREE, J.P.; GREBEN, H.; MNQANQENI, S. (2000) **Simultaneous removal of sulphate and sulphide with the biosure process from coal acid mine drainage**. Presented at WISA 2000 Biennial Conference, Sun City, South Africa, May-June 2000, 1–6p.

MARTINS, M.; FALEIRO, M.L.; BARROS, R.J.; VERISSIMO, A.R.; BARREIROS, M.A.; COSTA, M.C. (2009) **Characterization and activity studies of highly heavy metal resistant Sulphate Reducing Bacteria to be used in acid mine drainage decontamination**. Journal Hazardous Material, n. 166, 706–713p.

MATTORANO, D.A.; MERINAR, T. (1999) **Respiratory protection on offshore drilling rigs**. Applied Occupational and Environmental Hygiene, Vol.14, 141–148p.

MOCKAITIS, G. (2012) **Remoção de Cd^{2+} e Cu^{2+} de águas residuárias utilizando biorreator anaeróbico contínuo de leito fixo ordenado**. Tese (Doutorado) Departamento de Engenharia Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo – EESC/USP, São Carlos, SP, 327p.

MOSEY, F.E. (1983). **Mathematical modelling of the anaerobic digestion process: regulatory mechanisms for the formation of short-chain volatile acids from glucose**. Water Science Technology, vol. 15, n. 8-9, 209–232.

MULOPO, J.; GREBEN, H.; SIGAMA, J.; RADEBE, V.; MASHEGO, M.; BURKE, L. (2011) **The relationships between sulphate reduction and COD/VFA utilization using grass cellulose as carbon and energy sources**. Applied Biochemistry Biotechnology, n.163 393–403p.

MUYZER, G.; STAMS, A.J.M. (2008) **The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria**. Nature. Nature Reviews: Microbiology, Nature Publishing Group, vol. 6, 441-454p.

OMIL, F.; LENS, P.; VISSER, A.; HULSHOFF POL, L.W.; LETTINGA, G. (1998) **Long-term competition between sulphate reducing and methanogenic bacteria in UASB reactors treating volatile fatty acids**. Biotechnology bioengineering, n. 57, 676-685p.

OUDE ELFERINK, S.J.W.H.; VISSER, A.; HULSHOFF POL, L.W.; STAMS, A.J.M. (1994) **Sulphate reduction in methanogenic bioreactors**. FEMS Microbiology Rev. 15, 119-136p.

OYEKOLA, O.O.; VAN HILLE, R.P.; HARRISON, S.T.L. (2010) **Kinetic analysis of biological sulphate reduction using lactate as carbon source and electron donor: effect of sulphate concentration**. Chemical Engineering Science, n. 65, 4771-4781p.

PIZARRO, C.; BRAVO, A.D.; JEISON, D.; FILIPPI, G.R.; CHAMY, R. (2011) **Biofilm formation for organic matter and sulphate removal in gas-lift reactors**. Electronic Journal of Biotechnology, vol. 14, 1-12p. disponível em < <http://www.ejbiotechnology.info/index.php/ejbiotechnology/article/view/v14n4-3/1340> > acesso em 15/07/2012.

RIPLEY, L.E.; BOYLE, W.C.; CONVERSE, J.C. (1986) **Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high- strength wastes**. Journal Water Pollution Control Federation, v.58, n.5, 406-411p.

RINZEMA A.; LETTINGA G. (1998) **Anaerobic treatment of sulphate containing wastewater**. In: Wise DL, editor. Biotreatment systems, vol. 3. Boca Raton: CRC Press; 65-109p.

SABUMON, P.C. (2008) **Development of enhanced sulphidogenesis process for the treatment of wastewater having low COD/SO₄²⁻ ratio**. Journal of Hazardous Materials, n. 159, 616-625p.

SAKAMOTO, I.K.; VARESCHE, M.B.A. (2009) **Quantificação de bactérias redutoras de sulfato por NMP**. Curso de Treinamento, Rede de Laboratórios Nacionais de Microbiologia Aplicada ao Saneamento Ambiental – LNMSA, apostila 1, São Carlos - SP, 27p.

SARTI, A.; SILVA, A.J.; ZAIAT, M.; FORESTI, E. (2009) **The treatment of sulphate-rich wastewater using an anaerobic sequencing batch biofilm pilot-scale reactor**. Desalination, n. 249, 241-246p.

SARTI, A.; ZAIAT, M. (2011) **Anaerobic treatment of sulphate-rich wastewater in an anaerobic sequential batch reactor (AnSBR) using butanol as the carbon source.** Journal of Environmental Management, n. 92, 1537-1541p.

SILVA, A.J (2005) **Biodessulfatação com posterior oxidação parcial do sulfeto em reatores operados em bateladas sequenciais.** Tese (Doutorado) Departamento de Engenharia Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo – EESC/USP, São Carlos, SP, 188p.

SILVA, A.J.; DOMINGUES, M.R.; HIRASAWA, J.S.; VARESCHE, M.B.A.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. (2011) **Kinetic modeling and microbial assessment by Fluorescent in Situ Hybridization in anaerobic sequencing batch biofilm reactors treating sulphate-rich wastewater.** Brazilian Journal of Chemical Engineering, vol. 28, n. 2, 209–219p.

SILVA, A.J.; TAVARES, A.C.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. (2003) **Estudo da Sulfetogênese em Reatores Anaeróbios, com Biomassa Imobilizada, Operados em Batelada Sequencial.** XIV Simpósio Nacional de Fermentações SINAFERM, Florianópolis Santa Catarina.

SILVA, A.J.; VARESCHE, M.B.A.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. (2002) **Sulphate removal from industrial wastewater using a packed-bed anaerobic reactor.** Process Biochemistry, n. 37, 927–935p.

SINGH, R.; KUMAR, A.; KIRROLIA, A.; KUMAR, R.; YADAV, N.; BISHNOI, N.R.; LOHCHAB, R.K. (2011) **Removal of sulphate, COD and Cr (VI) in simulated and real wastewater by sulphate reducing bacteria enrichment in small bioreactor and FTIR study.** BioResearch Technology, n. 102, 677–682p.

SUBTIL, E.L.; CASSINI, S.T.A.; GONÇALVES, R.F. (2011) **Sulphate and dissolved sulfide variation under low COD/Sulphate ratio in up-flow anaerobic sludge blanket (UASB) treating domestic wastewater.** Interdisciplinary Journal of Applied Science: v. 7, n. 1, 130-139p.

TORRES, P. (1992) **Desempenho de um reator anaeróbio de manta de lodo (UASB) de bancada no tratamento de substrato sintético simulando esgotos sanitários.** Dissertação (Mestrado) Departamento de Engenharia Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo – EESC/USP, São Carlos-SP, 185p.

TOUZEL, J.P.; ALBAGNAC, G. (1983) **Isolation and characterization of Methanococcus-Mazei strain MC₃.** FEMS Microbiology Letters, vol. 16, n. 2-3, 241-245p.

VISSER, A.; BEEKSMA, I.; VAN DER ZEE, F.; STAMS, A.J.M.; LETTINGA, G. (1993) **Anaerobic degradation of volatile fatty acids at different sulphate concentrations.** Applied Microbiology and Biotechnology, v. 40, 549-556p.

VOSSOUGH, M.; SHAKERI, M.; ALEMZADEH, I. (2003) **Performance of anaerobic baffled reactor treating synthetic wastewater influenced by decreasing COD/SO₄ ratios.** Chemical Engineering and Processing, n. 42, 811-816p.

WEIJMA, J.; CHI, T.M.; HULSHOFF POL, L.W.; STAMS, A.J.M. (2003) **The effect of sulphate on methanol conversion in mesophilic upflow anaerobic sludge bed reactors.** Process Biochemistry, n. 38, 1259-1266p.

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, vol. 11, n.2, 33-42p.

Tabela A1 – Resultados das análises físico química do reator anaeróbio horizontal de leito fixo – continua

Data	Dias de operação	Local da amostra	pH	DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	Sulfato (mg.L ⁻¹)	Alcalinida- de parcial (mg.L ⁻¹)	Alcalinida- de total (mg.L ⁻¹)	Relação AI/AP	Sulfeto (mg.L ⁻¹)	Relação (H ₂ S/SO ₄ ²⁻)	Eficiência de remoção de DQO	Eficiência de redução de sulfato
19/08 2011	3	Afluente	10,7	1.159,8	124,0	173,6	188,5	-	-	9,3	-	-
		Efluente	7,3	207,1	71,7	218,2	241,1	0,30	6,8	-	82,1%	42,2%
22/08 2011	6	Afluente	10,3	1.234,5	130,2	158,7	184,5	-	-	9,4	-	-
		Efluente	7,2	225,2	93,6	158,7	182,5	0,29	6,2	-	81,7%	28,1%
24/08 2011	8	Afluente	10,9	1.886,7	64,2	157,7	176,6	-	-	29,3	-	-
		Efluente	7,2	49,5	46,1	156,7	208,3	0,33	4,7	-	97,3%	28,1%
26/08 2011	10	Afluente	10,5	1.752,4	150,1	143,8	160,7	-	-	11,6	-	-
		Efluente	7,4	54,2	44,3	164,7	209,3	0,27	4,2	-	96,9%	11,5%
29/08 2011	13	Afluente	10,2	1.871,8	72,0	142,8	165,7	-	-	25,9	-	-
		Efluente	7,4	58,2	62,0	179,5	224,2	0,25	3,4	-	96,8%	13,8%
06/09 2011	21	Afluente	10,8	1.634,8	199,6	152,8	163,7	-	-	8,1	-	-
		Efluente	6,8	144,3	70,3	123,0	159,7	0,20	14,0	-	91,1%	64,7%
07/09 2011	22	Afluente	10,8	1.528,3	121,1	149,8	158,7	-	-	12,6	-	-
		Efluente	6,9	72,7	92,7	186,5	191,4	0,33	15,2	-	95,2%	23,4%
12/09 2011	27	Afluente	10,6	1.581,7	91,3	116,0	129,9	-	-	17,3	-	-
		Efluente	6,8	36,1	65,0	121,0	164,7	0,36	18,1	-	97,7%	28,7%
14/09 2011	29	Afluente	10,3	1.602,7	70,0	104,1	119,0	-	-	22,9	-	-
		Efluente	6,9	35,4	64,0	111,1	143,8	0,29	16,8	-	97,7%	8,5%
19/09 2011	34	Afluente	10,4	1.558,6	117,2	155,7	171,6	-	-	13,2	-	-
		Efluente	6,6	40,5	67,5	110,1	166,6	0,28	13,5	-	97,4%	42,4%

Tabela A1 – Resultados das análises físico química do reator anaeróbio horizontal de leito fixo - continuação

Data	Dias de operação	Local da amostra	pH	DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	Sulfato (mg.L ⁻¹)	Alcalinida- de parcial (mg.L ⁻¹)	Alcalinida- de total (mg.L ⁻¹)	Relação AI/AP	Sulfeto (mg.L ⁻¹)	Relação (H ₂ S/SO ₄ ²⁻)	Eficiência de remoção de DQO	Eficiência de redução de sulfato
21/09 2011	36	Afluente	9,9	1.541,4	57,9	144,8	166,6	-	-	26,6	-	-
		Efluente	7,1	13,0	44,8	149,8	191,4	0,25	12,2	-	99,1%	22,5%
30/09 2011	45	Afluente	10,9	1.674,5	177,5	146,7	161,4	-	-	9,4	-	-
		Efluente	6,9	43,6	157,5	153,5	191,7	0,23	44,7	-	97,4%	11,2%
05/10 2011	50	Afluente	9,9	1.560,0	184,8	142,8	162,3	-	-	8,4	-	-
		Efluente	7,0	88,1	75,4	244,5	301,2	0,26	60,3	-	94,3%	59,1%
07/10 2011	52	Afluente	10,9	1.748,5	208,3	160,6	204,5	-	-	8,3	-	-
		Efluente	6,7	62,7	139,7	161,6	203,5	0,29	53,2	-	96,4%	32,9%
09/10 2011	54	Afluente	10,7	1.465,7	194,5	144,1	155,8	-	-	7,5	-	-
		Efluente	6,8	23,4	128,3	188,9	243,4	0,28	57,1	-	98,4%	34,0%
18/10 2011	63	Afluente	11,0	1.562,9	235,8	137,3	153,8	-	-	6,6	-	-
		Efluente	63,0	6,9	90,1	76,3	223,0	0,30	286,3	-	99,5%	61,7%
19/10 2011	64	Afluente	10,8	1.565,4	215,1	140,2	151,9	-	-	7,2	-	-
		Efluente	64,0	7,5	78,7	62,7	213,2	0,31	276,5	-	99,5%	63,3%
20/10 2011	65	Afluente	10,4	1.559,3	211,5	139,2	153,8	-	-	7,3	-	-
		Efluente	65,0	7,2	82,5	50,7	237,6	0,23	311,6	-	99,5%	60,9%
01/11 2011	71	Afluente	10,9	1.663,7	560,8	284,3	316,4	-	-	2,9	-	-
		Efluente	8,3	186,0	348,5	613,5	754,7	0,30	140,6	-	88,8%	37,8%
03/11 2011	73	Afluente	10,8	1.682,3	497,6	163,2	185,0	-	-	3,3	-	-
		Efluente	7,7	68,9	97,3	475,2	618,3	0,31	129,0	-	95,9%	80,4%
05/11 2011	75	Afluente	10,5	1.806,6	698,5	160,6	179,1	-	-	2,5	-	-
		Efluente	8,1	111,9	98,5	527,2	669,9	0,23	168,0	-	93,8%	85,9%

Tabela A1 – Resultados das análises físico química do reator anaeróbio horizontal de leito fixo - continuação

Data	Dias de operação	Local da amostra	pH	DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	Sulfato (mg.L ⁻¹)	Alcalinida- de parcial (mg.L ⁻¹)	Alcalinida- de total (mg.L ⁻¹)	Relação AI/AP	Sulfeto (mg.L ⁻¹)	Relação (H ₂ S/SO ₄ ²⁻)	Eficiência de remoção de DQO	Eficiência de redução de sulfato
07/11 2011	77	Afluente	9,1	1.475,1	549,4	137,0	176,2	-	-	2,6	-	-
		Efluente	7,2	25,4	284,9	320,2	409,3	0,30	118,0	-	98,2%	48,1%
09/11 2011	79	Afluente	9,4	1.563,8	546,6	135,1	172,3	-	-	2,8	-	-
		Efluente	7,1	44,6	339,4	358,4	440,6	0,27	143,5	-	97,1%	37,9%
10/11 2011	80	Afluente	11,0	1.649,4	528,6	175,2	189,9	-	-	3,1	-	-
		Efluente	7,2	56,0	146,5	430,4	535,6	0,28	136,0	-	96,6%	72,2%
16/11 2011	86	Afluente	10,0	1.579,2	516,7	116,8	159,7	-	-	3,0	-	-
		Efluente	7,1	58,7	134,2	170,4	434,3	0,23	107,0	-	96,2%	74,0%
17/11 2011	87	Afluente	9,6	1.583,1	514,6	144,1	187,9	-	-	3,0	-	-
		Efluente	7,9	112,7	40,1	564,8	694,3	0,24	115,5	-	92,8%	92,2%
18/11 2011	88	Afluente	10,9	1.617,0	565,0	165,5	179,1	-	-	2,8	-	-
		Efluente	7,6	167,5	55,8	472,3	675,8	0,26	109,5	-	89,6%	90,1%
21/11 2011	91	Afluente	10,7	1.594,1	579,9	152,8	167,5	-	-	2,7	-	-
		Efluente	7,6	64,1	112,8	468,4	579,4	0,23	105,0	-	95,9%	80,5%
22/11 2011	92	Afluente	10,1	1.628,6	522,0	149,9	174,3	-	-	3,1	-	-
		Efluente	7,8	86,0	65,8	455,7	584,2	0,30	149,5	-	94,7%	87,3%
25/11 2011	95	Afluente	10,6	1.578,9	553,6	155,8	173,3	-	-	2,8	-	-
		Efluente	8,0	110,0	25,2	492,7	614,4	0,24	129,5	-	93,0%	95,4%
28/11 2011	98	Afluente	10,1	1.651,1	553,1	160,6	186,0	-	-	2,9	-	-
		Efluente	7,4	182,4	67,8	443,0	597,9	0,28	163,5	-	88,9%	87,7%
29/11 2011	99	Afluente	10,9	1.766,0	579,7	162,6	185,0	-	-	3,0	-	-
		Efluente	7,5	157,9	93,0	430,4	592,0	0,25	196,5	-	91,0%	83,9%

Tabela A1 – Resultados das análises físico química do reator anaeróbio horizontal de leito fixo - continuação

Data	Dias de operação	Local da amostra	pH	DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	Sulfato (mg.L ⁻¹)	Alcalinida- de parcial (mg.L ⁻¹)	Alcalinida- de total (mg.L ⁻¹)	Relação AI/AP	Sulfeto (mg.L ⁻¹)	Relação (H ₂ S/SO ₄ ²⁻)	Eficiência de remoção de DQO	Eficiência de redução de sulfato
30/11 2011	100	Afluente	10,8	1.774,0	645,3	169,4	189,9	-	-	2,7	-	-
		Efluente	7,6	162,1	105,0	470,3	613,5	0,35	123,0	-	90,8%	83,7%
05/12 2011	105	Afluente	10,4	1.610,8	825,8	153,8	171,3	-	-	1,9	-	-
		Efluente	8,6	149,5	119,4	628,1	803,4	0,38	208,0	-	90,7%	85,5%
06/12 2011	106	Afluente	10,2	1.629,6	850,6	149,9	167,5	-	-	1,9	-	-
		Efluente	8,4	207,8	69,1	678,7	855,9	0,30	205,5	-	87,2%	91,8%
07/12 2011	107	Afluente	9,9	1.589,3	938,1	132,4	153,8	-	-	1,6	-	-
		Efluente	7,9	200,8	107,5	575,5	761,5	0,38	239,0	-	87,3%	88,5%
12/12 2011	112	Afluente	10,2	1.545,0	883,8	152,8	184,0	-	-	1,7	-	-
		Efluente	7,5	187,6	211,8	525,8	667,0	0,28	258,5	-	87,8%	76,0%
13/12 2011	113	Afluente	9,9	1.580,3	907,5	148,0	181,1	-	-	1,7	-	-
		Efluente	7,9	104,4	191,5	648,5	819,9	0,26	251,5	-	93,3%	78,8%
14/12 2011	114	Afluente	10,7	1.579,8	891,6	161,6	176,2	-	-	1,7	-	-
		Efluente	7,7	181,7	219,7	744,9	876,4	0,32	179,0	-	88,5%	75,3%
15/12 2011	115	Afluente	10,9	1.600,6	885,5	161,6	181,1	-	-	1,8	-	-
		Efluente	7,5	300,9	167,4	695,3	864,7	0,27	257,5	-	81,2%	81,0%
08/02 2012	170	Afluente	9,9	1.749,2	1.433,8	150,9	180,1	-	-	1,2	-	-
		Efluente	7,7	425,9	542,9	788,8	988,4	0,26	242,0	-	75,6%	62,1%
09/02 2012	171	Afluente	10,9	1.700,0	1.612,3	160,6	177,2	-	-	1,0	-	-
		Efluente	7,7	339,4	622,1	694,3	929,0	0,32	136,0	-	80,0%	61,4%
15/02 2012	177	Afluente	11,2	1.596,0	1.392,4	149,9	163,6	-	-	1,1	-	-
		Efluente	7,8	331,1	603,9	611,5	821,9	0,27	227,0	-	79,2%	56,6%
16/02 2012	178	Afluente	11,0	1.536,7	1.409,0	154,8	171,3	-	-	1,0	-	-
		Efluente	8,3	270,7	569,0	689,4	896,8	0,26	212,0	-	82,3%	59,6%
27/02 2012	189	Afluente	10,7	1.881,2	1.535,7	150,9	173,3	-	-	1,2	-	-
		Efluente	7,9	280,3	644,1	647,5	851,1	0,28	146,0	-	85,1%	58,0%

Tabela A1 – Resultados das análises físico química do reator anaeróbio horizontal de leito fixo - conclusão

Data	Dias de operação	Local da amostra	pH	DQO (mgO ₂ .L ⁻¹)	Sulfato (mg.L ⁻¹)	Alcalinidade parcial (mg.L ⁻¹)	Alcalinidade total (mg.L ⁻¹)	Relação AI/AP	Sulfeto (mg.L ⁻¹)	Relação (H ₂ S/SO ₄ ²⁻)	Eficiência de remoção de DQO	Eficiência de redução de sulfato
28/02 2012	190	Afluente	10,6	1.592,7	1.615,8	152,8	173,3	-	-	0,9	-	-
		Efluente	7,9	272,4	660,4	633,9	828,7	0,24	173,0	-	82,8%	59,1%
29/02 2012	191	Afluente	10,2	1.548,7	1.548,5	159,6	181,6	-	-	1,0	-	-
		Efluente	8,1	503,0	607,1	586,3	849,7	0,25	218,0	-	67,5%	60,8%
06/03 2012	197	Afluente	10,1	1.610,4	1.887,7	145,9	164,2	-	-	0,8	-	-
		Efluente	8,1	481,1	965,9	680,8	912,1	0,34	166,5	-	70,1%	48,8%
07/03 2012	198	Afluente	9,8	1.734,3	1.918,8	142,2	170,6	-	-	0,9	-	-
		Efluente	7,9	283,9	961,5	689,1	903,8	0,34	172,0	-	83,6%	49,8%
08/03 2012	199	Afluente	10,8	1.607,7	1.876,2	147,7	162,4	-	-	0,8	-	-
		Efluente	8,3	217,2	1.009,1	665,2	880,0	0,31	121,5	-	86,4%	46,2%
09/03 2012	200	Afluente	10,6	1.548,7	1.992,6	160,5	174,3	-	-	0,7	-	-
		Efluente	8,4	149,5	1.067,7	668,0	834,1	0,31	184,0	-	90,3%	46,4%
12/03 2012	203	Afluente	10,1	1.466,3	1.893,9	145,9	165,1	-	-	0,7	-	-
		Efluente	8,1	141,6	1.150,0	653,3	801,0	0,31	157,0	-	90,3%	39,2%
13/03 2012	204	Afluente	9,9	1.504,1	1.971,1	139,4	169,7	-	-	0,7	-	-
		Efluente	8,2	116,7	1.087,4	655,1	820,3	0,34	112,0	-	92,2%	44,8%
14/03 2012	205	Afluente	9,8	1.403,3	1.862,6	144,0	165,1	-	-	0,7	-	-
		Efluente	8,4	186,4	1.007,7	665,2	855,2	0,31	121,5	-	86,7%	45,9%
21/03 2012	212	Afluente	11,0	1.833,6	1.949,2	159,6	170,6	-	-	0,9	-	-
		Efluente	7,8	387,1	1.038,4	760,7	958,0	0,32	114,5	-	78,8%	46,7%
22/03 2012	213	Afluente	10,8	1.875,7	1.896,2	156,0	170,6	-	-	0,9	-	-
		Efluente	7,9	348,6	1.047,5	700,1	945,1	0,25	115,5	-	81,4%	44,7%

Fase 1 do 3° ao 36° dias de operação; Fase 2 do 37° ao 65° dias; Fase 3 do 66° ao 100° dias; Fase 4 do 101° ao 115° dias; Fase 5 do 170° ao 191° dias e Fase 6 do 192° ao 213° dias de operação.

APÊNDICE B – ANÁLISE FÍSICO QUÍMICA - PERFIL

Tabela B1 – Análise físico química perfil reator – Fase 2

Perfil reator – fase 2				
Data: 20/10/2011				
Concentração aplicada de sulfato – 200 mg SO ₄ ²⁻ .L ⁻¹				
Local	pH Adimensional	DQO (mg O ₂ .L ⁻¹)	Sulfato (mg SO ₄ ²⁻ .L ⁻¹)	Sulfeto (mg H ₂ S.L ⁻¹)
Afluente	9,9	1.695,7	236,2	-
Porta L4	6,0	943,8	38,5	76,4
Porta L8	5,4	967,8	13,3	63,6
Porta L12	6,3	656,5	38,0	57,6
Porta L16	6,1	109,2	24,4	58,7
Efluente	6,8	50,6	42,0	49,3

Tabela B2 – Análise físico química perfil reator – Fase 3

Perfil reator – fase 3				
Data: 30/11/2011				
Concentração aplicada de sulfato – 500 mg SO ₄ ²⁻ .L ⁻¹				
Local	pH Adimensional	DQO (mg O ₂ .L ⁻¹)	Sulfato (mg SO ₄ ²⁻ .L ⁻¹)	Sulfeto (mg H ₂ S.L ⁻¹)
Afluente	10,6	1.804,1	578,4	-
Porta L4	7,3	1.433,5	39,5	158,5
Porta L8	6,0	1.321,5	35,8	168,5
Porta L12	7,8	849,3	33,5	140,5
Porta L16	8,4	290,7	11,1	168,0
Efluente	7,8	129,8	22,8	118,5

Tabela B3 – Análise físico química perfil reator – Fase 4

Perfil reator – fase 4				
Data: 15/12/2011				
Concentração aplicada de sulfato – 800 mg SO ₄ ²⁻ .L ⁻¹				
Local	pH Adimensional	DQO (mg O ₂ .L ⁻¹)	Sulfato (mg SO ₄ ²⁻ .L ⁻¹)	Sulfeto (mg H ₂ S.L ⁻¹)
Afluente	10,4	1.650,8	806,1	-
Porta L4	6,7	1.279,9	183,8	214,4
Porta L8	5,8	1.193,1	31,8	224,9
Porta L12	5,9	832,0	33,6	200,0
Porta L16	6,5	135,7	47,9	174,4
Efluente	6,9	63,8	87,0	158,4

Tabela B4 – Análise físico química perfil reator – Fase 5

Perfil reator – fase 5				
Data: 10/02/2012				
Concentração aplicada de sulfato – 1500 mg SO₄²⁻.L⁻¹				
Local	pH Adimensional	DQO (mg O ₂ .L ⁻¹)	Sulfato (mg SO ₄ ²⁻ .L ⁻¹)	Sulfeto (mg H ₂ S.L ⁻¹)
Afluente	10,5	1.756,8	1.313,8	-
Porta L4	7,2	1.400,1	98,2	158,7
Porta L8	6,2	1.259,2	139,8	151,0
Porta L12	7,6	790,6	250,0	124,0
Porta L16	8,3	282,0	286,3	152,2
Efluente	7,8	160,9	262,4	121,5

Tabela B5 – Análise físico química perfil reator – Fase 6

Perfil reator – fase 6				
Data: 23/03/2012				
Concentração aplicada de sulfato – 2000 mg SO₄²⁻.L⁻¹				
Local	pH Adimensional	DQO (mg O ₂ .L ⁻¹)	Sulfato (mg SO ₄ ²⁻ .L ⁻¹)	Sulfeto (mg H ₂ S.L ⁻¹)
Afluente	10,2	1.672,3	1.610,3	-
Porta L4	7,1	1.354,9	840,8	116,0
Porta L8	7,4	1.030,5	760,7	82,2
Porta L12	7,7	810,6	816,4	95,4
Porta L16	7,8	472,3	765,4	94,4
Efluente	7,7	325,6	808,0	93,8

APÊNDICE C – ANÁLISE CROMATOGRÁFICA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA DE ÁCIDOS ORGÂNICOS

Tabela C1 – Resultados das análises HPLC dos ácidos orgânicos – continua

Data	Dias de operação	Ácidos		
		Acético (mg.L ⁻¹)	Propiônico (mg.L ⁻¹)	Iso-butírico (mg.L ⁻¹)
19/08/2011	3	0,0	0,0	0,0
22/08/2011	6	0,0	0,0	0,0
24/08/2011	8	0,0	0,0	0,0
26/08/2011	10	0,0	0,0	0,0
29/08/2011	13	0,0	0,0	0,0
31/08/2011	15	0,0	0,0	0,0
06/09/2011	21	0,0	0,0	0,0
07/09/2011	22	0,0	0,0	0,0
12/09/2011	27	0,0	0,0	0,0
14/09/2011	29	0,0	0,0	0,0
19/09/2011	34	0,0	0,0	0,0
21/09/2011	36	0,0	0,0	0,0
26/09/2011	41	21,3	0,0	0,0
28/09/2011	43	15,7	0,0	0,0
30/09/2011	45	23,6	0,0	0,0
03/10/2011	48	20,8	0,0	0,0
05/10/2011	50	21,9	0,0	0,0
07/10/2011	52	55,8	0,0	0,0
09/10/2011	54	7,1	0,0	0,0
18/10/2011	63	19,7	0,0	0,0
19/10/2011	64	18,0	0,0	0,0
20/10/2011	65	20,5	0,0	0,0
01/11/2011	71	19,1	0,0	0,0
03/11/2011	73	88,8	0,0	0,0
05/11/2011	75	23,7	0,0	0,0

Tabela C1 – Resultados das análises HPLC dos ácidos orgânicos – continuação

Data	Dias de operação	Ácidos		
		Acético (mg.L ⁻¹)	Propiônico (mg.L ⁻¹)	Iso-butírico (mg.L ⁻¹)
07/11/2011	77	20,3	0,0	0,0
09/11/2011	79	20,4	0,0	0,0
10/11/2011	80	20,8	0,0	0,0
16/11/2011	86	20,5	0,0	0,0
17/11/2011	87	22,3	0,0	0,0
18/11/2011	88	14,7	0,0	0,0
21/11/2011	91	20,4	0,0	0,0
22/11/2011	92	18,8	0,0	0,0
25/11/2011	95	8,7	0,0	0,0
28/11/2011	98	20,6	0,0	0,0
29/11/2011	99	21,2	0,0	0,0
30/11/2011	100	20,2	0,0	0,0
05/12/2011	105	0,0	0,0	0,0
06/12/2011	106	0,0	0,0	0,0
07/12/2011	107	0,0	0,0	0,0
12/12/2011	112	0,0	0,0	0,0
13/12/2011	113	0,0	0,0	0,0
14/12/2011	114	0,0	0,0	0,0
15/12/2011	115	0,0	0,0	0,0
08/02/2012	170	0,0	0,0	0,0
09/02/2012	171	10,4	0,0	0,0
10/02/2012	172	0,0	0,0	0,0
15/02/2012	177	17,9	0,0	0,0
16/02/2012	178	16,2	0,0	0,0
27/02/2012	189	11,6	0,0	0,0
28/02/2012	190	11,3	0,0	0,0
29/02/2012	191	50,1	0,0	0,0
06/03/2012	197	29,0	0,0	0,0

Tabela C1 – Resultados das análises HPLC dos ácidos orgânicos – conclusão

Data	Dias de operação	Ácidos		
		Acético (mg.L ⁻¹)	Propiônico (mg.L ⁻¹)	Iso-butírico (mg.L ⁻¹)
07/03/2012	198	7,6	0,0	0,0
08/03/2012	199	3,9	0,0	0,0
09/03/2012	200	5,2	0,0	0,0
12/03/2012	203	4,2	0,0	0,0
13/03/2012	204	2,4	0,0	0,0
14/03/2012	205	11,1	0,0	0,0
21/03/2012	212	0,0	0,0	0,0
22/03/2012	213	19,0	0,0	0,0

APÊNDICE D – ANÁLISE ESTATÍSTICA BOXPLOT DOS ÁCIDOS

Tabela D1 – Análise estatística *boxplot* de ácidos fase 1 – efluente

Fase 1			
Análise Estatística	Ácidos		
	Acético	Propiônico	Butírico
Mínimo No Outlier	0,0	0,0	0,0
Primeiro Quartil	0,0	0,0	0,0
Mediana	0,0	0,0	0,0
Terceiro Quartil	0,0	0,0	0,0
Máximo No Outlier	0,0	0,0	0,0
Limite Inferior	0,0	0,0	0,0
Intervalo Inter Quartil	0,0	0,0	0,0
Limite Superior	0,0	0,0	0,0
Mínimo	0,0	0,0	0,0
Primeiro Quartil (Q1)	0,0	0,0	0,0
Mediana	0,0	0,0	0,0
Terceiro Quartil (Q3)	0,0	0,0	0,0
Máximo	0,0	0,0	0,0

Tabela D2 – Análise estatística *boxplot* de ácidos fase 2 – efluente

Fase 2			
Análise Estatística	Ácidos		
	Acético	Propiônico	Butírico
Mínimo No Outlier	18,0	0,0	0,0
Primeiro Quartil	19,3	0,0	0,0
Mediana	20,6	0,0	0,0
Terceiro Quartil	22,3	0,0	0,0
Máximo No Outlier	23,6	0,0	0,0
Limite Inferior	14,7	0,0	0,0
Intervalo Inter Quartil	3,0	0,0	0,0
Limite Superior	26,9	0,0	0,0
Mínimo	1,2	0,0	0,0
Primeiro Quartil (Q1)	19,3	0,0	0,0
Mediana	1,3	0,0	0,0
Terceiro Quartil (Q3)	1,7	0,0	0,0
Máximo	1,2	0,0	0,0

Tabela D3 – Análise estatística *boxplot* de ácidos fase 3 – efluente

Fase 3			
Análise Estatística	Ácidos		
	Acético	Propiônico	Butírico
Mínimo No Outlier	18,8	0,0	0,0
Primeiro Quartil	19,6	0,0	0,0
Mediana	20,4	0,0	0,0
Terceiro Quartil	21,0	0,0	0,0
Máximo No Outlier	22,3	0,0	0,0
Limite Inferior	17,6	0,0	0,0
Intervalo Inter Quartil	1,3	0,0	0,0
Limite Superior	23,1	0,0	0,0
Mínimo	0,8	0,0	0,0
Primeiro Quartil (Q1)	19,6	0,0	0,0
Mediana	0,7	0,0	0,0
Terceiro Quartil (Q3)	0,6	0,0	0,0
Máximo	1,3	0,0	0,0

Tabela D4 – Análise estatística *boxplot* de ácidos fase 4 – efluente

Fase 4			
Análise Estatística	Ácidos		
	Acético	Propiônico	Butírico
Mínimo No Outlier	0,0	0,0	0,0
Primeiro Quartil	0,0	0,0	0,0
Mediana	0,0	0,0	0,0
Terceiro Quartil	0,0	0,0	0,0
Máximo No Outlier	0,0	0,0	0,0
Limite Inferior	0,0	0,0	0,0
Intervalo Inter Quartil	0,0	0,0	0,0
Limite Superior	0,0	0,0	0,0
Mínimo	0,0	0,0	0,0
Primeiro Quartil (Q1)	0,0	0,0	0,0
Mediana	0,0	0,0	0,0
Terceiro Quartil (Q3)	0,0	0,0	0,0
Máximo	0,0	0,0	0,0

Tabela D5 – Análise estatística *boxplot* de ácidos fase 5 – efluente

Fase 5			
Análise Estatística	Ácidos		
	Acético	Propiônico	Butírico
Mínimo No Outlier	0,0	0,0	0,0
Primeiro Quartil	7,8	0,0	0,0
Mediana	11,4	0,0	0,0
Terceiro Quartil	16,6	0,0	0,0
Máximo No Outlier	17,9	0,0	0,0
Limite Inferior	-5,3	0,0	0,0
Intervalo Inter Quartil	8,7	0,0	0,0
Limite Superior	29,8	0,0	0,0
Mínimo	7,8	0,0	0,0
Primeiro Quartil (Q1)	7,8	0,0	0,0
Mediana	3,6	0,0	0,0
Terceiro Quartil (Q3)	5,1	0,0	0,0
Máximo	1,3	0,0	0,0

Tabela D6 – Análise estatística *boxplot* de ácidos fase 6 – efluente

Fase 6			
Análise Estatística	Ácidos		
	Acético	Propiônico	Butírico
Mínimo No Outlier	0,0	0,0	0,0
Primeiro Quartil	4,0	0,0	0,0
Mediana	6,4	0,0	0,0
Terceiro Quartil	17,0	0,0	0,0
Máximo No Outlier	29,0	0,0	0,0
Limite Inferior	-15,5	0,0	0,0
Intervalo Inter Quartil	13,0	0,0	0,0
Limite Superior	36,6	0,0	0,0
Mínimo	4,0	0,0	0,0
Primeiro Quartil (Q1)	4,0	0,0	0,0
Mediana	2,4	0,0	0,0
Terceiro Quartil (Q3)	10,6	0,0	0,0
Máximo	11,9	0,0	0,0

APÊNDICE E – ANÁLISE ESTATÍSTICA BOXPLOT FÍSICO QUÍMICA

Tabela E1 – Análise estatística *boxplot* físico química fase 1 – efluente

Fase 1			
Análise Estatística	Parâmetro		
	DQO	Sulfato	Sulfeto
Mínimo No Outlier	13,0	44,3	110,1
Primeiro Quartil	38,3	54,1	122,0
Mediana	54,2	65,0	156,7
Terceiro Quartil	108,5	71,0	172,1
Máximo No Outlier	207,1	93,6	218,2
Limite Inferior	-67,0	28,7	46,8
Intervalo Inter Quartil	70,2	16,8	50,1
Limite Superior	213,9	96,3	247,3
Mínimo	25,2	9,7	11,9
Primeiro Quartil (Q1)	38,3	54,1	122,0
Mediana	15,8	10,8	34,7
Terceiro Quartil (Q3)	54,3	5,9	15,3
Máximo	98,5	22,6	46,1

Tabela E2 – Análise estatística *boxplot* físico química fase 2 – efluente

Fase 2			
Análise Estatística	Parâmetro		
	DQO	Sulfato	Sulfeto
Mínimo No Outlier	23,4	50,7	153,5
Primeiro Quartil	53,1	69,1	175,2
Mediana	78,7	76,3	213,2
Terceiro Quartil	85,3	134,0	230,3
Máximo No Outlier	90,1	157,5	244,5
Limite Inferior	4,9	-28,2	92,7
Intervalo Inter Quartil	32,1	64,9	55,0
Limite Superior	133,5	231,4	312,8
Mínimo	29,7	18,3	21,7
Primeiro Quartil (Q1)	53,1	69,1	175,2
Mediana	25,5	7,1	37,9
Terceiro Quartil (Q3)	6,5	57,7	17,0
Máximo	4,7	23,5	14,2

Tabela E3 – Análise estatística *boxplot* físico química fase 3 – efluente

Fase 3			
Análise Estatística	Parâmetro		
	DQO	Sulfato	Sulfeto
Mínimo No Outlier	25,4	25,2	358,4
Primeiro Quartil	61,4	66,8	430,4
Mediana	110,0	98,5	468,4
Terceiro Quartil	160,0	140,4	483,9
Máximo No Outlier	186,0	146,5	527,2
Limite Inferior	-86,4	-43,4	350,0
Intervalo Inter Quartil	98,5	73,5	53,5
Limite Superior	307,9	250,7	564,3
Mínimo	35,9	41,5	72,0
Primeiro Quartil (Q1)	61,4	66,8	430,4
Mediana	48,5	31,6	37,9
Terceiro Quartil (Q3)	50,0	41,9	15,5
Máximo	25,9	6,1	43,2

Tabela E4 – Análise estatística *boxplot* físico química fase 4 – efluente

Fase 4			
Análise Estatística	Parâmetro		
	DQO	Sulfato	Sulfeto
Mínimo No Outlier	149,5	69,1	525,8
Primeiro Quartil	165,6	113,5	601,8
Mediana	187,6	167,4	648,5
Terceiro Quartil	204,3	201,6	687,0
Máximo No Outlier	207,8	219,7	744,9
Limite Inferior	107,5	-18,7	474,0
Intervalo Inter Quartil	38,7	88,1	85,2
Limite Superior	262,4	333,9	814,8
Mínimo	16,0	44,3	75,9
Primeiro Quartil (Q1)	165,6	113,5	601,8
Mediana	21,9	53,9	46,7
Terceiro Quartil (Q3)	16,7	34,2	38,4
Máximo	3,5	18,0	57,9

Tabela E5 – Análise estatística *boxplot* físico química fase 5 – efluente

Fase 5			
Análise Estatística	Parâmetro		
	DQO	Sulfato	Sulfeto
Mínimo No Outlier	270,7	542,9	586,3
Primeiro Quartil	276,3	586,4	622,7
Mediana	331,1	622,1	647,5
Terceiro Quartil	382,7	652,2	691,9
Máximo No Outlier	503,0	660,4	788,8
Limite Inferior	116,8	487,8	519,0
Intervalo Inter Quartil	106,3	65,7	69,1
Limite Superior	542,2	750,9	795,6
Mínimo	5,6	43,5	36,3
Primeiro Quartil (Q1)	276,3	586,4	622,7
Mediana	54,7	35,6	24,8
Terceiro Quartil (Q3)	51,5	30,1	44,3
Máximo	120,2	8,1	96,8

Tabela E6 – Análise estatística *boxplot* físico química fase 6 – efluente

Fase 6			
Análise Estatística	Parâmetro		
	DQO	Sulfato	Sulfeto
Mínimo No Outlier	116,7	930,7	112,0
Primeiro Quartil	149,5	961,5	121,5
Mediana	217,2	1007,7	157,0
Terceiro Quartil	348,6	1067,7	184,0
Máximo No Outlier	481,1	1150,0	214,5
Limite Inferior	-149,1	802,0	27,7
Intervalo Inter Quartil	199,1	106,2	62,5
Limite Superior	647,3	1227,2	277,7
Mínimo	32,7	30,7	9,5
Primeiro Quartil (Q1)	149,5	961,5	121,5
Mediana	67,6	46,2	35,5
Terceiro Quartil (Q3)	131,4	60,0	27,0
Máximo	132,4	82,2	30,5

APÊNDICE F – ANÁLISE ESTATÍSTICA DESCRITIVA

Tabela F1 – Análise estatística descritiva

Fase 1					
Análise Estatística	Parâmetros				
	DQO		Sulfato		Sulfeto
	Afluentes	Efluentes	Afluentes	Efluentes	Efluentes
Média	1.577,5	85,1	99,8	65,6	10,5
Erro padrão	68,2	21,9	13,3	5,1	1,6
Mediana	1.581,7	54,2	91,3	65,0	12,2
Modo	#N/A	#N/A	#N/A	#N/A	#N/A
Desvio padrão	226,4	72,9	44,1	16,9	5,4
Variância da amostra	51.298,7	5.318,0	1.944,5	285,9	29,8
Curtose	0,1	0,1	1,3	-0,3	-1,8
Assimetria	-0,5	1,2	1,0	0,4	-0,0
Intervalo	726,9	212,2	149,4	49,2	14,6
Mínimo	1.159,8	13,0	50,1	44,3	3,4
Máximo	1.886,7	225,2	199,6	93,6	18,1
Soma	17.353,0	936,8	1.097,9	722,4	115,5
Contagem	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0
Nível de confiança (95.0%)	152,1	48,9	29,6	11,3	3,6

Tabela F2 – Análise estatística descritiva

Fase 2					
Análise Estatística	Parâmetros				
	DQO		Sulfato		Sulfeto
	Afluentes	Efluentes	Afluentes	Efluentes	Efluentes
Média	1.590,9	67,0	203,9	98,7	52,4
Erro padrão	34,8	9,5	7,5	15,9	1,9
Mediana	1.562,9	78,7	208,3	76,3	52,8
Modo	#N/A	#N/A	#N/A	#N/A	#N/A
Desvio padrão	92,1	25,2	19,8	42,1	5,2
Variância da amostra	8.483,5	636,6	394,6	1.777,2	27,3
Curtose	0,5	-0,2	-0,3	-1,9	-0,2
Assimetria	0,7	-1,0	0,2	0,3	0,0
Intervalo	282,8	66,6	58,2	106,8	15,6
Mínimo	1.465,7	23,4	177,5	50,7	44,7
Máximo	1.748,5	90,1	235,8	157,5	60,3
Soma	11.136,6	469,4	1.427,6	691,0	367,1
Contagem	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0
Nível de confiança (95.0%)	85,1	23,3	18,3	38,9	4,8

Tabela F3 – Análise estatística descritiva

Fase 3					
Análise Estatística	Parâmetros				
	DQO		Sulfato		Sulfeto
	Afluyente	Efluente	Afluyente	Efluente	Efluente
Média	1.640,9	106,3	560,8	134,3	135,6
Erro padrão	22,9	13,8	13,4	26,9	6,6
Mediana	1.628,6	110,0	553,1	98,5	129,5
Modo	#N/A	#N/A	#N/A	#N/A	#N/A
Desvio padrão	88,8	53,7	52,0	104,3	25,6
Variância da amostra	7.897,2	2.891,0	2.706,4	10.891,8	657,6
Curtose	0,0	-1,4	2,8	0,5	0,7
Assimetria	0,3	0,1	1,5	1,3	0,9
Intervalo	331,4	160,5	200,9	323,2	91,5
Mínimo	1.475,1	25,4	497,6	25,2	105,0
Máximo	1.806,6	186,0	698,5	348,5	196,5
Soma	24.613,5	1.594,9	8.411,9	2.015,5	2.034,1
Contagem	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0
Nível de confiança (95.0%)	49,2	29,7	28,8	57,7	14,2

Tabela F4 – Análise estatística descritiva

Fase 4					
Análise Estatística	Parâmetros				
	DQO		Sulfato		Sulfeto
	Afluyente	Efluente	Afluyente	Efluente	Efluente
Média	1.590,8	190,4	883,3	155,2	228,4
Erro padrão	10,1	22,7	13,8	21,7	11,7
Mediana	1.589,3	187,6	885,5	167,4	239,0
Modo	#N/A	#N/A	#N/A	#N/A	#N/A
Desvio padrão	26,8	60,2	36,5	57,4	31,0
Variância da amostra	722,0	3.630,0	1.338,7	3.298,1	963,2
Curtose	0,7	1,9	0,1	-1,5	-1,2
Assimetria	-0,3	0,7	-0,2	-0,3	-0,5
Intervalo	84,5	196,5	112,2	150,5	79,5
Mínimo	1.545,0	104,4	825,8	69,1	179,0
Máximo	1.629,6	300,9	938,1	219,7	258,5
Soma	11.135,5	1.332,9	6.183,2	1.086,7	1.599,0
Contagem	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0
Nível de confiança (95.0%)	24,8	55,7	33,8	53,1	28,7

Tabela F5 – Análise estatística descritiva

Fase 5					
Análise Estatística	Parâmetros				
	DQO		Sulfato		Sulfeto
	Afluyente	Efluente	Afluyente	Efluente	Efluente
Média	1.657,8	346,1	1.506,8	680,8	246,2
Erro padrão	47,4	33,3	35,7	75,3	29,0
Mediana	1.596,0	331,1	1.535,7	622,1	227,0
Modo	#N/A	#N/A	#N/A	#N/A	#N/A
Desvio padrão	125,6	88,2	94,4	199,4	76,8
Variância da amostra	15.776,9	7.783,1	8.925,0	39.764,7	5.907,5
Curtose	0,1	0,2	-2,1	6,1	0,3
Assimetria	0,9	1,1	-0,0	2,4	0,4
Intervalo	344,5	232,2	223,3	580,5	237,0
Mínimo	1.536,7	270,7	1.392,4	542,9	136,0
Máximo	1.881,2	503,0	1.615,8	1.123,5	373,0
Soma	11.604,7	2.423,1	10.547,9	4.766,1	1.724,0
Contagem	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0
Nível de confiança (95.0%)	116,1	81,5	87,3	184,4	71,0

Tabela F6 – Análise estatística descritiva

Análise estatística descritiva fase 6					
Análise Estatística	Parâmetros				
	DQO		Sulfato		Sulfeto
	Afluyente	Efluente	Afluyente	Efluente	Efluente
Média	1.620,4	256,9	1.916,5	1.056,5	173,8
Erro padrão	54,4	42,0	14,9	39,6	26,8
Mediana	1.607,7	217,2	1.896,2	1.009,1	157,0
Modo	#N/A	#N/A	#N/A	#N/A	121,5
Desvio padrão	163,3	126,1	44,9	118,8	80,5
Variância da amostra	26.673,0	15.918,7	2.016,2	14.131,5	6.483,5
Curtose	-1,0	-0,7	-0,8	2,2	4,4
Assimetria	0,4	0,6	0,6	1,4	2,0
Intervalo	472,3	364,3	130,0	375,8	254,5
Mínimo	1.403,3	116,7	1.862,6	941,9	112,0
Máximo	1.875,7	481,1	1.992,6	1.317,7	366,5
Soma	14.584,3	2.312,5	17.248,7	9.509,2	1.564,5
Contagem	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0
Nível de confiança (95.0%)	125,5	96,9	34,5	91,3	61,8

#N/A: não aplicável

Tabela G2 – Análise do resultado NMP – fim da operação reator

Amostra analisada			Fim de operação do RAHLF						
Data da inoculação do NMP			27/04/2012						
Data da leitura do NMP			27/05/2012						
Organismos	BRS			AM			Bactérias Totais		
Réplicas Diluição	1	2	3	1	2	3	1	2	3
10 ⁻¹	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 ⁻²	+	+	+	+	+	-	+	+	+
10 ⁻³	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 ⁻⁴	+	+	+	+	-	+	+	+	+
10 ⁻⁵	+	+	+	-	-	+	+	+	+
10 ⁻⁶	+	+	-	-	-	-	+	+	+
10 ⁻⁷	-	-	-	-	-	-	+	+	+
10 ⁻⁸	-	-	-	-	-	-	+	+	-
10 ⁻⁹	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 ⁻¹⁰	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 ⁻¹¹	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 ⁻¹²	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 ⁻¹³	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 ⁻¹⁴	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 ⁻¹⁵	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 ⁻¹⁶	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 ⁻¹⁷	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 ⁻¹⁸	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 ⁻¹⁹	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 ⁻²⁰	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Etapas para calcular os valores de NMP:

- 1) Encontrar a combinação de três diluições consecutivas com crescimento celular (positivo);
- 2) Usar a combinação para encontrar o valor na tabela de NMP da APHA (2005);
- 3) Aplicar o valor encontrado na tabela na fórmula:

$$\text{NMP} \cdot 100\text{ml}^{-1} = \text{número encontrado na tabela APHA} \times 10/10^0$$