UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

ALANA GANDRA LIMA DE MOURA

**Remoção de surfactante de água residuária de
lavanderia comercial em co-digestão com esgoto
doméstico em reator anaeróbio escala piloto**

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos

2017

ALANA GANDRA LIMA DE MOURA

**Remoção de surfactante de água residuária de
lavanderia comercial em co-digestão com esgoto
doméstico em reator anaeróbio escala piloto**

Dissertação apresentada à Escola de
Engenharia de São Carlos da Universidade de
São Paulo para obtenção do título de Mestre
em Engenharia Hidráulica e Saneamento

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Bernadete Amâncio Varesche

São Carlos

2017

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.

G929r Gandra Lima de Moura, Alana
Remoção de surfactante de água residuária de
lavanderia comercial em co-digestão com esgoto
doméstico em reator anaeróbio escala piloto / Alana
Gandra Lima de Moura; orientadora Maria Bernadete
Amâncio Varesche. São Carlos, 2017.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação
em Engenharia Hidráulica e Saneamento e Área de
Concentração em Hidráulica e Saneamento -- Escola de
Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo,
2017.

1. Alquilbenzeno linear sulfonado. 2. Reator
anaeróbio de leito granular expandido. 3. Bellinea. 4.
Methanosaeta. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: **ALANA GANDRA LIMA DE MOURA**

Título da dissertação: "Remoção de surfactante de água residuária de lavanderia comercial em co-digestão com esgoto doméstico em reator anaeróbio escala piloto"

Data da defesa: 22.09.2017

Comissão Julgadora:

Resultado:

Profª. Associada **Maria Bernadete Amancio Varesche Silva**
(Orientadora)
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

Aprovada

Profª. Drª. **Lorena Lima de Oliveira Pires**
(Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/Unesp – Araraquara)

Aprovada

Profª. Drª. **Nelma Regina Segnini Bossolan**
(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

Aprovada

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento:

Prof. Dr. **Eduardo Mario Mendiolo**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:
Prof. Associado **Luis Fernando Costa Alberto**

**Aos meus pais Emanoel e Maria
pelo amor e pela inspiração
Dedico.**

AGRADECIMENTOS

A Deus por me guiar.

À professora Dra. Maria Bernadete pela orientação, oportunidade, apoio e disposição. E pelo acompanhamento desde a graduação.

Ao pós doutorando Tiago Palladino, pela parceria, por todos os ensinamentos, e pelo acréscimo essencial a minha motivação como pesquisadora desde a iniciação científica.

Ao professor Dr. Dagoberto Okada pelo auxílio desde o projeto até a inoculação do reator, e pela disposição em ajudar sempre.

Ao aluno de iniciação científica Victor Biruel, pelo auxílio com o tratamento dos dados de biologia molecular.

Ao graduando em Engenharia Ambiental Lucas Aleixo pelo auxílio com as análises e interesse na pesquisa.

Aos companheiros de pesquisa do grupo de surfactantes, pelas discussões e ajuda constante: Marcus Vinícius, Thaís Macedo, Caroline Granatto, Leonardo Gerosa e Fabrício Motteran.

As senhoras da Lavanderia Maria e Rosário pelo bom humor, e por coletarem água de lavanderia na maior boa vontade.

Ao corpo técnico: Carol, Janja, Isabel, Elô e Fernando, pelo auxílio.

As secretárias: Silvana, Priscila e Sá, pelos "corres" prestados.

Aos professores das disciplinas que cursei, pelo conhecimento repassado, que contribuiu para elaboração deste trabalho: Valéria Del Nery, Eugenio Foresti, Juliano Corbi, Guilherme Rossi, Valtencir Zucolotto, José Roberto Campos, Beatriz Gomes e Lyda Paz.

Aos amigos do LPB, por tornarem a rotina no laboratório mais leve e pelo companheirismo: Inaê Alves, Carla Diniz, Camila Rabelo, Laís Americo, Juliana Kawanishi, Vanessa Silva, Lucas Fuess, Leandro Godoi, Carol Gil, Alejandra Villa, Raíssa Mazarelli, Elias Neto, Tiago Duarte, Mayara Fellipe, Bruno Giz, Jessica Costa, Jessica Soares, Rodrigo Carneiro, Guilherme Oliveira, Rachel Costa, Eduardo Penteado, Moara Yuri, Julliana Silva.

Aos amigos da minha turma do mestrado, pelo companheirismo e momentos de descontração: Natanna Melo, Luttemberg Ferreira, Raphaella Barbosa, Ana Cláudia, Danilo Ayabe, Bruno Freitas, Rafael Damiano, David Rosa, Hiago Schiano, Hugo Araújo, Lucas Maroubó, Murilo Esposto, Nicolas Finkler, Túlio Siqueira, Tatiana Gomes, Arlan Scortegagna.

Às companheiras da república Disfarça, por serem minha família em São Carlos, por todo carinho, e por tornarem minha rotina mais saudável: Barbara Fraiha, Marina Barreto, Tais Bronca, Dandara Sousa, Marina Abrão, Luísa Dinis, Luiza Chaves, Maiara Uliana, Mayumi Quinto, Maysa Albertini, Rafaela Figueiredo, Marcela Parra, Paula Esteves.

Aos meus pais: Maria da Cruz e Emanuel Moura, por serem meu principal ponto de apoio, minha base, meus conselheiros. Por todo carinho, amor e por serem minha inspiração.

Ao meu irmão Vítor Emanuel, pela certeza da companhia que sempre terei ao meu lado.

À minha madrinha Iris Gomes pelos valores, exemplo de disposição e todo amor.

Às minhas amigas de infância Guéls Reino, que apesar da distância, sempre estiveram presentes em minha vida: Agnes Carvalho, Bruna Rocha, Camila Alhadeff, Carolina Arouche, Giulia Buonocore, Nicole Alcântara, Luísa Vale e Raíssa Cantanhede.

Ao CNPq e FAPESP pelo apoio financeiro.

A todos que de alguma forma contribuíram com este trabalho, direta, ou indiretamente.

Muito Obrigada!!!

RESUMO

MOURA, A. G. L. **Remoção de surfactante de água residuária de lavanderia comercial em co-digestão com esgoto doméstico em reator anaeróbio escala piloto.** 2017. Dissertação (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

O Alquilbenzeno Linear Sulfonado (LAS) é um surfactante aniônico considerado prioridade de risco ambiental entre os contaminantes emergentes atuais. Estudos anteriores reportaram a degradação anaeróbia de LAS por co-digestão da água residuária de lavanderia comercial e co-substratos sintéticos (extrato de levedura e etanol), em reatores em escala de bancada. Todavia, na literatura ainda são limitados os estudos envolvendo co-substratos economicamente viáveis, como o esgoto doméstico. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de remoção do LAS, de água residuária de lavanderia comercial em co-digestão com esgoto doméstico. O reator de leito granular expandido (EGSB) escala piloto de 62,0 L foi operado em condição mesofílica, em TDH de 40 h, por 480 dias. O reator foi inoculado com 12,0 L de lodo proveniente de reator UASB usado no tratamento de água residuária de abatedouro de aves. Na primeira etapa, de adaptação, com duração de 60 dias, o reator foi alimentado apenas com esgoto doméstico. Em seguida, o reator foi alimentado com água residuária de lavanderia comercial diluída em esgoto doméstico para obtenção de concentrações de LAS afluente de 5 ± 4 ; 19 ± 10 e $36 \pm 19 \text{ mg L}^{-1}$, nas etapas II, III e IV, respectivamente. Nestas etapas o reator foi monitorado por 60, 270 e 90 dias. Verificou-se diminuição da eficiência de remoção de matéria orgânica de $73 \pm 23 \%$ na etapa de adaptação, para $61 \pm 25\%$, $50 \pm 15\%$ e $44 \pm 15\%$, respectivamente, para as etapas II, III e IV. Assim como, verificou-se diminuição da eficiência de remoção do LAS de $73 \pm 31\%$ para $55 \pm 29\%$ e $32 \pm 17\%$ nas três últimas etapas. Verificou-se aumento significativo de sulfeto da etapa II para a etapa III e IV, respectivamente de $8 \pm 2 \text{ mg L}^{-1}$ para $29 \pm 12 \text{ mg L}^{-1}$ e $31 \pm 5 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. Foi realizada a caracterização taxonômica da biomassa do leito do lodo do reator EGSB ao final de cada etapa experimental, sendo identificadas bactérias semelhantes a *Bellineia* (domínio Bacteria) e *Methanosaeta* (domínio Archaea), as quais foram as de maior abundância relativa ao longo de toda operação. A tecnologia empregada para remoção do surfactante foi adequada para concentrações afluente de até 20 mg LAS L^{-1} . Aclimação da biomassa microbiana foi observada, após longo período de exposição aos compostos recalcitrantes da água residuária de lavanderia.

Palavras-chave: Alquilbenzeno Linear Sulfonado (LAS); Reator Anaeróbio de Leito Granular Expandido (EGSB); *Bellineia*; *Methanosaeta*.

ABSTRACT

MOURA, A. G. L. **Surfactant removal from commercial laundry wastewater in co-digestion with domestic sewage using a pilot scale anaerobic reactor.** 2017. Dissertation (Master) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

Classified as an emergent contaminant, Alkylbenzene Linear Sulfonate (LAS) is an anionic surfactant of high priority given its environmental risk. Previous studies reported LAS anaerobic degradation from laundry wastewater in co-digestion with synthetic substrates (such as methanol, ethanol and yeast extract). However, studies with more economic viable substrates as domestic sewage still lacking. This study assessed LAS removal from laundry wastewater diluted in domestic sewage, using an Expanded Bed Granular Sludge (EGSB) pilot scale reactor. The reactor was kept in mesophilic temperature, with 62,0 L total volume and it was operated with a hydraulic retention time (HRT) of 40 h. The inoculum was 12,0 L of sludge from an UASB used on a poultry slaughterhouse wastewater treatment plant. On the first stage, of adaptation, the reactor was fed only with domestic sewage for 60 days. Then, commercial laundry wastewater was diluted in domestic sewage to obtain LAS affluent concentrations of 5 ± 4 ; 19 ± 10 and $36 \pm 19 \text{ mg L}^{-1}$, on stages II, III and IV, respectively. These stages lasted for 60, 270 and 90 days. The increase of commercial laundry wastewater proportion on fed resulted in lower organic matter removal efficiencies. These parameter decreased from $73 \pm 23\%$ on adaptation, to $61 \pm 25\%$, $50 \pm 15\%$ and $39 \pm 23\%$ on following stages. As well as LAS removal efficiencies that dropped from $73 \pm 31\%$ to $55 \pm 29\%$ and $44 \pm 15\%$ on three last stages. Sulphide production enhanced from stage II ($8 \pm 2 \text{ mg L}^{-1}$) to stage III ($29 \pm 12 \text{ mg L}^{-1}$) and remained $31 \pm 5 \text{ mg L}^{-1}$ on stage IV. Taxonomic characterization of granular sludge biomass in the end of each stage was performed and genders similar to *Bellineia* (Bacteria domain) and *Methanosaeta* (Archae domain) were the ones with higher relative abundance in all stages. The technology applied was suitable for anaerobic surfactant removal with LAS affluent concentration of 20 mg L^{-1} . Acclimation of microbial biomass was observed after long exposure of microbial community to recalcitrant compounds from laundry wastewater.

Keywords: Alkylbenzene Linear Sulfonate (LAS); Expanded Bed Granular Sludge reactor (EGSB); *Bellineia*; *Methanosaeta*.

Lista de Figuras

Figura 3.1: Estrutura do alquilbenzeno linear sulfonado (SANZ et al., 2003)	4
Figura 3.2: Rota de degradação anaeróbia do Alquilbenzeno Linear Sulfonado (Lara Martin et al., 2010).....	13
Figura 4.1: Fluxograma Experimental.....	17
Figura 4.2: Ilustração (medida em cm) e foto do Reator EGSB	19
Figura 4.3: Pontos de amostragem da granulometria do leito de lodo ao final da operação do reator EGSB escala piloto	20
Figura 4.4: Foto ilustrativa dos acessórios do sistema Oxitop®: (a) frasco utilizado nos ensaios; e (b) cabeçote que determina e armazena os dados de pressão.	23
Figura 5.1: Boxplot da concentração de LAS da água residuária de lavanderia comercial e do esgoto doméstico	25
Figura 5.2: Boxplot da concentração de DQO da caracterização da água residuária de lavanderia comercial e esgoto doméstico.....	26
Figura 5.3: Boxplot da caracterização de AOV da água residuária de lavanderia comercial	27
Figura 5.4: Boxplot da caracterização de AOV do esgoto doméstico	27
Figura 5.5: Boxplot da relação AI/AP efluente do reator EGSB escala piloto	31
Figura 5.6: Boxplot das eficiências de remoção de matéria orgânica nas diferentes etapas de operação	34
Figura 5.7: Variação temporal da concentração de DQO afluente e efluente ao reator EGSB escala piloto	36
Figura 5.8: Boxplot das concentrações de sulfeto efluente ao reator EGSB escala piloto	37
Figura 5.9: Variação temporal da concentração de sulfeto efluente ao reator EGSB escala piloto.....	38
Figura 5.10: Boxplot das eficiências de remoção do LAS do reator EGSB escala piloto .	39
Figura 5.11: Variação temporal da concentração de LAS afluente e efluente do reator EGSB escala piloto	41
Figura 5.12: Relação entre a Carga Específica aplicada e a Remoção Específica de LAS	42
Figura 5.13 - Variação temporal das eficiências de remoção de LAS e DQO e da concentração de sulfeto efluente	43

Figura 5.14: Distribuição do destino final de LAS no reator EGSB escala piloto	45
Figura 5.15: Distribuição granulométrica no leito de lodo do reator EGSB escala piloto	47
Figura 5.16: Concentração de sólidos totais no leito de lodo do reator EGSB escala piloto.....	48
Figura 5.17: Compostos detectados na análise qualitativa por CG-EM	51
Figura 5.18: Curva de rarefação da caracterização microbiana do leito de lodo do reator EGSB escala piloto.	56
Figura 5.19: Índice de similaridade de Bray-curtis aplicado as etapas de operação do reator EGSB.....	57
Figura 5.20: Diagrama de Venn da caracterização microbiana das etapas de operação do reator EGSB.	58
Figura 5.21: Abundância relativa de gêneros do domínio Bacteria em cada etapa	62
Figura 5.22: Abundância relativa de gêneros do domínio Archaea em cada etapa	63

Lista de Tabelas

Tabela 3.1: Resumo dos trabalhos realizados no Laboratório de Processos Biológicos (LPB-EESC-USP)	8
Tabela 3.2: Gêneros relacionados a degradação de LAS e/ou compostos aromáticos relatados na literatura.....	14
Tabela 4.1: Parâmetros para caracterização da Água Residuária de Lavanderia Comercial.....	18
Tabela 4.2: Análises de monitoramento do reator	21
Tabela 4.3: Condições cromatográficas para quantificação do LAS.....	21
Tabela 4.4: Composição da solução de macro e micronutrientes	24
Tabela 4.5: Solução estoque concentrada de ácidos orgânicos utilizados como substrato.....	24
Tabela 5.1: Valores médios de caracterização da água residuária de lavanderia e esgoto doméstico	29
Tabela 5.2: Valores de Alcalinidade e pH	31
Tabela 5.3 - Sólidos totais no leito de lodo do reator EGSB escala piloto	32
Tabela 5.4: Sólidos suspensos efluente do reator EGSB escala piloto	33
Tabela 5.5: Concentração de matéria orgânica nas diferentes etapas de operação do EGSB.....	36
Tabela 5.6 - Sulfeto efluente do reator EGSB escala piloto	37
Tabela 5.7 - LAS afluente e efluente do reator EGSB escala piloto.....	39
Tabela 5.8: Balanço de massa do LAS durante a operação do reator EGSB escala piloto	45
Tabela 5.9: Diâmetro médio dos grânulos no leito de lodo do reator EGSB escala piloto e porcentagem das faixas de tamanho	46
Tabela 5.10: Compostos detectados na análise qualitativa por CG-EM	50
Tabela 5.11: Resultados obtidos nos ensaios de Atividade Metanogênica Específica (AME) e Biodegradabilidade.....	54
Tabela 5.12: Índices de alfa-diversidade da caracterização microbiana do leito de lodo do reator EGSB.....	56
Tabela 5.13: Possíveis rotas de degradação dos gêneros encontrados nas amostras do leito de lodo do reator EGSB escala ampliada e comparação com a literatura.....	59

Lista de siglas

AME - Atividade Metanogênica Específica

AOV - Ácidos Orgânicos Voláteis

ASBR- Reator Anaeróbio em Batelada

BRS - Bactérias Redutoras de Sulfato

CG - Cromatografia Gasosa

CG-EM - Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrofotometria de Massa

CE - Carga Específica

COE - Carga Orgânica Específica

COV- Carga Orgânica Volumétrica

CSTR - Reator de Mistura Completa

CV - Carga Volumétrica

DQO - Demanda Química de Oxigênio

EESC - Escola de Engenharia de São Carlos

EGSB - Reator Anaeróbio de Leito Granular Expandido (*Expanded Bed Granular Sludge Reactor*)

ETAR - Estação de Tratamento de Águas Residuárias

ETE - Estação de Tratamento de Esgoto

FBR - Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado (*Fluidized Bed Reactor*)

HAIB - Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo (*Horizontal-flow Anaerobic Immobilized Biomass*)

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Performance

LAS - Alquilbenzeno Linear Sulfonado

LPB - Laboratório de Processos Biológicos

MS - Espectrofotometria de Massa

PCR - Reação em Cadeia de Polimerase

pH - Potencial Hidrogeniônico

OTU - Unidade Taxonômica Operacional (*Operational Taxonomic Units*)

ST - Sólidos Totais

STV - Sólidos Totais Voláteis

TDH - Tempo de Detenção Hidráulica

UASB - Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente e Manta de Lodo (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor*)

UPLC - Cromatografia Líquida de Ultra Performance

USP - -Universidade de São Paulo

Sumário

1	Introdução	1
2	Objetivos.....	3
2.1	Objetivo geral	3
2.2	Objetivos específicos	3
3	Revisão Bibliográfica.....	4
3.1	Alquilbenzeno Linear Sulfonado.....	4
3.2	Degradação Anaeróbia do LAS	6
3.2.1	Co-substratos.....	9
3.2.2	Sulfeto.....	10
3.2.3	Reator Anaeróbio de Leito Granular Expandido	11
3.2.4	Caracterização Microbiana	12
3.3	Atividade Metanogênica Específica e Biodegradabilidade	14
4	Material e Métodos	17
4.1	Coleta e Caracterização da Água Residuária de Lavanderia Comercial e Esgoto Doméstico.....	17
4.2	Reator Anaeróbio de Leito Granular Expandido	18
4.3	Granulometria	19
4.4	Análises Físico-Químicas e Cromatográficas	20
4.5	Análise Qualitativa por CG-EM	21
4.6	Extração de LAS adsorvido	21
4.7	Caracterização Microbiana	22
4.7.1	Extração de DNA.....	22
4.7.2	Sequenciamento do gene RNAr 16s.....	22
4.8	Atividade Metanogênica Específica e Biodegradabilidade	23
5	Resultados e Discussão.....	25
5.1	Caracterização da Água Residuária de Lavanderia Comercial e Esgoto Doméstico.....	25
5.2	Monitoramento do Reator EGSB.....	29
5.2.1	Alcalinidade e pH.....	29
5.2.2	Sólidos Totais.....	32
5.2.3	Remoção de Matéria Orgânica.....	33
5.2.4	Sulfetogênese	36
5.2.5	Remoção de LAS	39
5.2.6	Estabilidade do Reator	42
5.3	Balanco de Massa do LAS	44
5.4	Granulometria	45
5.5	Análise Qualitativa por CG-EM	48
5.6	Atividade Metanogênica Específica e Biodegradabilidade	52
5.7	Caracterização Microbiana	54
6	Conclusões.....	64
7	Sugestões.....	65
8	Referências Bibliográficas.....	66

1 INTRODUÇÃO

O impacto ambiental resultante da emissão de efluentes com elevadas concentrações de surfactantes se tornou preocupação, principalmente, quando estes compostos passaram a ser utilizados como principais componentes na formulação de detergentes sintéticos, substituindo os produtos de limpeza formulados com base em sabão (Scott e Jones, 2000). Dentre os contaminantes emergentes, o Alquilbenzeno Linear Sulfonado (LAS) é o mais consumido no mundo, e foi classificado como prioridade quanto ao risco ao meio ambiente (Plassche et al., 1997; Garcia et al., 2005). As águas residuárias de lavanderia comercial são lançamentos pontuais, com elevadas concentrações deste surfactante aniônico.

As tecnologias de remoção do LAS de água residuária de lavanderia comercial por tratamento físico-químico já são concebidas, como por exemplo, adsorção ou ultra filtração (Tripathi et al., 2013). Sabe-se que, por meio destas tecnologias, ocorre apenas a remoção do LAS da água residuária, transferindo-o para os resíduos que serão gerados no tratamento (lodo químico, carvão vegetal e membranas). Desta forma, estudos vêm sendo direcionados com a finalidade de obter a degradação biológica do LAS.

O Reator Anaeróbio de Leito Granular Expandido (*Expanded Granular Sludge Bed* - EGSB) é uma alternativa tecnológica a ser aplicada, devido à possibilidade de recirculação do efluente, consequentemente, com diluição da carga orgânica do tóxico no afluente do reator. Além disso, a expansão do leito favorece o contato biomassa-água residuária, e a metabolização de compostos de difícil degradação (Mendonça et al., 2005).

Estudos estão sendo realizados no Laboratório de Processos Biológicos (LPB-EESC-USP) a fim de avaliar a eficiência do tratamento biológico de águas residuárias contendo LAS. A possibilidade de não adição de co-substratos sintéticos (como extrato de levedura, sacarose e etanol) na alimentação, utilizando o esgoto doméstico como fonte de substratos orgânicos facilmente degradáveis, torna-se atrativa por representar menor custo.

Delforno et al. (2015) avaliaram a remoção de $28,8 \pm 6,4 \text{ mg L}^{-1}$ de LAS afluyente em reator EGSB alimentado com água residuária de lavanderia comercial diluída em água de abastecimento e tempo de detenção hidráulica (TDH) de $39 \pm 5 \text{ h}$. Os autores obtiveram $59 \pm 26\%$ de eficiência de remoção deste surfactante. Faria (2015) avaliou reator EGSB alimentado com água residuária de lavanderia comercial diluída em esgoto doméstico, em TDH de 36 h e $24,1 \pm 4,1 \text{ mg L}^{-1}$ de LAS afluyente. A autora obteve $55 \pm 18\%$ de eficiência de remoção do LAS. Todas as pesquisas de remoção e degradação de LAS em reator EGSB (Delforno et al. 2012; Delforno et al., 2014; Faria, 2015) foram realizadas em escala de bancada, tornando-se interessante a avaliação da remoção em reator escala piloto como proposta dessa dissertação.

No aumento de escala dos reatores ocorrem mudanças em suas características hidráulicas quando comparados aos de bancada. Sendo assim, além da reprodutibilidade das eficiências de remoção do LAS, é possível também avaliar a estabilidade da concentração de sólidos (biomassa) no leito de lodo do reator (Mendonça et al., 2005). Além disso, ao trabalhar com maiores volumes, a variabilidade das amostras afluyente e efluente devido as características do próprio esgoto doméstico e água residuária, também são maiores.

A comunidade microbiana do reator pode ser afetada por vários parâmetros, como por exemplo, a presença de compostos tóxicos na água residuária de lavanderia, além da configuração e hidrodinâmica do reator. O possível sintrofismo entre as populações bacterianas para a degradação do LAS foi reportado por Delforno et al. (2014). Bactérias semelhantes a *Synergistes* foram relacionadas à β -oxidação (degradação da cadeia alquílica), *Clostridium* relacionada à dessulfonação da molécula de LAS, e *Desulfomonile* relacionada à degradação do anel aromático.

Desta forma, trata-se de pesquisa inédita cujo principal objetivo é avaliar a eficiência da remoção de LAS, a partir da co-digestão de água residuária de lavanderia comercial e esgoto doméstico, em condição fermentativa-metanogênica, em reator EGSB escala piloto. Também foi verificada a influência do aumento da carga de LAS afluyente na eficiência de sua remoção, e na comunidade microbiana do leito de lodo do reator EGSB.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a eficiência de remoção de LAS, a partir da co-digestão de água residuária de lavanderia comercial e esgoto doméstico, em condição fermentativa-metanogênica em reator EGSB escala piloto.

2.2 Objetivos específicos

- a) Avaliar a eficiência de remoção da matéria orgânica em função das etapas de operação do reator;
- b) Avaliar a eficiência de remoção do LAS em função da carga de LAS aplicada;
- c) Avaliar a influência do sulfeto em função das etapas de operação do reator e na remoção de LAS;
- d) Avaliar a alteração dos grânulos em função da operação e em diferentes alturas do leito de lodo do reator;
- e) Avaliar a atividade metanogênica específica do lodo do leito do reator ao final da operação;
- f) Caracterizar a comunidade microbiana do leito de lodo do reator.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Alquilbenzeno Linear Sulfonado

Os surfactantes estão incluídos entre os produtos com propriedades de limpeza e solubilização, consumidos em grandes quantidades, e em seguida despejados em efluentes domésticos e industriais (Jardak et al., 2016). Os surfactantes são poluentes indesejáveis no ambiente aquático e terrestre. Estes compostos possuem uma parte da molécula hidrofílica (grupos sulfato, carboxil ou fosfato) e outra hidrofóbica (cadeias alquílicas) (Mungray e Kumar, 2008). Os surfactantes aniônicos são de aplicação ampla devido principalmente as suas excelentes propriedades detergentes (Abu-hassan et al., 2006).

O LAS é um tensoativo aniônico constituído de uma mistura de homólogos (compostos de mesmo grupo funcional com propriedades químicas similares) em função do comprimento da cadeia alquílica, e de isômeros (compostos de mesma fórmula molecular), em função da posição do anel aromático sulfonado na cadeia alquílica (Leon et al., 2006). O tamanho da cadeia alquílica varia de 10 a 14 átomos de carbono, e o anel aromático sulfonado pode estar ligado a qualquer átomo de carbono, com exceção aos carbonos terminais (Figura 3.1).

Figura 3.1: Estrutura do alquilbenzeno linear sulfonado (SANZ et al., 2003)

Dentre os efeitos negativos do LAS, pode-se citar os seguintes: formação de espumas, que inibem ou paralisam os processos de depuração natural, concentram impurezas e dificultam a aeração nas unidades de tratamento; diminuição da dissolução de oxigênio atmosférico na água; capacidade de solubilizar óleos e inseticidas, como o DDT, quando presente em concentrações acima da micelar crítica; desnaturação de enzimas e rompimento de membranas celulares de microrganismos, plantas e animais, sendo altamente tóxico; potencial de bioacumulação na cadeia trófica; favorecimento da eutrofização de cursos d' água; e necessidade de longo

tempo de retenção, quando em altas concentrações, para que ocorra sua completa remoção nas estações de tratamento de esgoto (Arslan-Alaton e Erdinc 2006; Gomez et al., 2011; Olmez-Hanci et al. 2011; Huang et al., 2012).

Elevadas concentrações de surfactantes levam a problemas ambientais incluindo risco ecológico e danos à saúde humana (Huang et al., 2012). A exposição ao LAS pode não ser letal, mas afeta funções internas e diminui a efetividade de funções vitais, como resistência ao estresse, reprodução e crescimento da biota aquática (Hampel et al., 2012). Venhuis e Mehrvac (2004) reportaram que 0,02 a 1,00 mg LAS L⁻¹ pode danificar as brânquias dos peixes, levar a produção de secreções mucosas em excesso e diminuir a respiração, além de danificar padrões de nado da larva azul. O surfactante também é tóxico as algas verdes unicelulares *Dunaliella* sp. em concentrações acima de 3,5 mg L⁻¹ (Utsunomiya et al., 1997).

Na legislação mundial, a concentração máxima de surfactantes aniônicos é de 0,2 a 0,5 mg L⁻¹ para água potável e 1,0 mg L⁻¹ para outros fins (Roh et al., 1995). A resolução CONAMA 357/2005 estabelece concentração máxima de 0,5 mg L⁻¹ de surfactantes para corpos d'água de classes I, II e III. Além da aplicação de padrões de lançamento cada vez mais restritos (Resolução CONAMA 430/2011).

Embora as concentrações médias de LAS em esgoto doméstico não sejam extremamente elevadas, existem lançamentos pontuais de águas residuárias de lavanderia comercial, os quais emitem efluente com elevada concentração de LAS (superior a 300 mg L⁻¹), elevado pH e alcalinidade, além de alta demanda química e bioquímica de oxigênio, o que impõe condições extremamente adversas à região receptora (Braga e Varesche, 2014).

As concentrações de surfactantes e de DQO na água residuária de lavanderia comercial variam entre 12 e 1.024 mg LAS L⁻¹ e de 488 a 4.800 mg DQO L⁻¹, respectivamente (Seo et al., 2001; Braga e Varesche, 2014). Na literatura são poucos os trabalhos que abordam o tratamento biológico de água residuária de lavanderia comercial, sendo comum o emprego de adsorção, floculação/coagulação e oxidação avançada (Tripathi et al., 2013).

Ramcharan e Bissessur (2017) compararam o tratamento biológico e por eletrocoagulação da água residuária de lavanderia. Os reatores em batelada de 2,0 L

foram inoculados com uma cepa de *Bacillus*, bactéria que degrada lipídeos, proteínas, detergentes e hidrocarbonetos. A eletrocoagulação também foi realizada em batelada de 2,0 L, com eletrodos de alumínio e aplicação de corrente, que levavam a formação de espécies de hidróxido de alumínio, capazes de adsorver poluentes da água residuária de lavanderia. Os pesquisadores notaram rápido decréscimo na concentração de surfactante no meio em 0,5 h na eletrocoagulação e 12 h na digestão aeróbia.

3.2 Degradação Anaeróbia do LAS

Na Tabela 3.1 foram listadas as últimas pesquisas realizadas no Laboratório de Processos Biológicos (LPB-EESC-USP) relacionadas à remoção do LAS. Nas primeiras pesquisas os reatores eram alimentados com LAS padrão (Sigma ou Aldrich), detergente líquido, ou sabão em pó, diluídos em água de abastecimento. A partir de 2014, iniciou-se a utilização de água residuária real (água residuária de lavanderia comercial) diluída em água de abastecimento. Além do LAS em diferentes concentrações (aumento da carga de LAS afluente ao passar das etapas), adicionava-se na alimentação co-substratos (como metanol, etanol e extrato de levedura), para auxiliar a degradação microbiana. A possibilidade de não adição destes co-substratos passou também a ser analisada, a partir de 2014.

Diferentes configurações de reatores anaeróbios foram utilizadas, tais como, reatores anaeróbios operados em batelada alimentada (*Advanced Sequencing Batch Reactor* - ASBR) (Duarte et al., 2010), reator anaeróbio horizontal de leito fixo (*Horizontal-flow Anaerobic Immobilized Biomass* - HAIB) (Duarte et al., 2010), reator anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket* - UASB) (Okada et al., 2013), reator anaeróbio de leito de lodo expandido (*Expanded Granular Sludge Bed* - EGSB) (Delforno et al., 2012; Delforno et al., 2014; Faria, 2015) e reator anaeróbio de leito fluidificado (*Fluidized Bed Reactor* - FBR) (Oliveira et al., 2010; Carosia et al., 2014 ; Braga et al., 2015 ; Macedo et al., 2015).

Angelidaki et al. (2004) verificaram inibição da atividade metanogênica em concentrações de LAS afluente acima de 50 mg L⁻¹. Oliveira et al. (2010) obtiveram eficiências de remoção de 93% para concentrações de LAS padrão afluente de 46 ± 5

mg L^{-1} , em reator FBR em TDH de 18 h. Segundo Garcia et al. (2006a), a carga de LAS padrão aplicada ao reator pode influenciar significativamente a cinética de sua biodegradação para concentrações maiores que 20 mg L^{-1} . Delforno et al. (2014), Macedo et al. (2015) e Faria (2015) verificaram, para reatores EGSB (TDH de 39 h), FBR (TDH de 18 h) e EGSB (TDH de 36 h), respectivamente, alimentados com água residuária de lavanderia comercial, eficiências de remoção de LAS acima de 60% para 20 mg L^{-1} afluyente.

Okada et al. (2013) avaliaram o efeito do TDH (6 h, 35 h e 80 h) na remoção de LAS (25%, 69% e 83%) em reator UASB alimentado com 15 mg L^{-1} de LAS padrão afluyente. Os autores verificaram que, para TDH de 35 h, ocorreu o equilíbrio entre o tempo necessário para as reações de degradação de LAS e a carga específica de LAS aplicada. Além disso, o aumento do TDH favoreceu significativamente a remoção de LAS, provavelmente devido ao maior tempo de contato do LAS com a biomassa (Delforno et al., 2012).

Tabela 3.1: Resumo dos trabalhos realizados no Laboratório de Processos Biológicos (LPB-EESC-USP)

Referência Bibliográfica	Fonte de LAS	Co-substratos	COV (mgDQOL ⁻¹ d ⁻¹)	Carga de LAS (mgLASL ⁻¹ d ⁻¹)	LAS afluyente (mgL ⁻¹)	Remoção de LAS (%)	Reator		
							Configuração	Volume (L)	TDH (h)
Duarte et al., 2010	Detergente líquido	Extrato de levedura, amido, sacarose e sais	183-771	22,0	22 ± 5	24-37	ASBR	5,00	24
Duarte et al., 2010	Detergente líquido	Sem adição*	-	22,0	22 ± 8	53	ASBR	5,00	24
Duarte et al., 2010	LAS comercial	Extrato de levedura, amido, sacarose e sais	1360	7,0	14 ± 1	68	HAIB	2,00	12
Duarte et al., 2010	LAS comercial	Sem adição*	80	7,0	14 ± 1	55-91	HAIB	2,00	12
Oliveira et al., 2010	LAS comercial	Extrato de levedura, sacarose e sais	744	61,0	46 ± 5	95	FBR	1,27	18
Delforno et al., 2012	LAS comercial	Etanol, metanol, vitaminas e sais	609	10,5	14 ± 1	73	EGSB	1,27	32
Okada et al., 2013	LAS comercial	Etanol, metanol, extrato de levedura	888	48,0	12 ± 2	25	UASB	0,65	6
Okada et al., 2013	LAS comercial	Etanol, metanol, extrato de levedura	39	8,7	13 ± 2	69	UASB	0,65	35
Okada et al., 2013	LAS comercial	Etanol, metanol, extrato de levedura	51	3,6	12 ± 2	83	UASB	0,65	80
Carosia et al., 2014	Sabão em pó	Extrato de levedura, etanol e solução de sais	971	22,4	14 ± 4	48	FBR	1,00	15
Delforno et al., 2014	Água residuária de lavanderia comercial	Extrato de levedura, metanol, etanol, sais	513	6,9	11 ± 5	76	EGSB	1,40	38
Delforno et al., 2014	Água residuária de lavanderia comercial	Sem adição*	136	7,4	12 ± 3	93	EGSB	1,40	39
Delforno et al., 2014	Água residuária de lavanderia comercial	Sem adição*	146	17,8	29 ± 6	59	EGSB	1,40	39
Macedo et al., 2015	Água residuária de lavanderia comercial	Etanol	940	33,3	25 ± 8	73	FBR	1,26	18
Macedo et al., 2015	Água residuária de lavanderia comercial	Sem adição*	840	26,7	20 ± 6	76	FBR	1,26	18
Braga et al., 2015	Água residuária de lavanderia comercial	Extrato de levedura, sacarose e solução de sais	888	32,0	24 ± 5	40	FBR	1,26	18
Faria, 2015	Água residuária de lavanderia comercial	Sem adição*	117	12,7	19 ± 7	77	EGSB	1,80	36
Faria, 2015	Água residuária de lavanderia comercial	Esgoto doméstico	216	12,7	19 ± 7	55	EGSB	1,80	36
Granatto, 2017	Esgoto sanitário	Esgoto sanitário	180	4,9	7 ± 4	60	EGSB	62,00	36

*co-subsstratos foram utilizados apenas na fase de adaptação, com objetivo de reativação do lodo inoculado. COV- Carga Orgânica Volumétrica; ASBR - Reator Anaeróbio em Batelada; HAIB - Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo; EGSB - Reator Anaeróbio de Leito Granular Expandido; UASB - Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente e Manta de Lodo ; FBR - Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado).

3.2.1 Co-substratos

A suplementação afluenta com macro/micro nutrientes, vitaminas e co-substratos é frequentemente relatada nos trabalhos envolvendo a remoção biológica de LAS. Abboud et al. (2007) reportaram o aumento da biodegradação de LAS de 60% para 90 % ao adicionar co-substratos (glicose, sacarose, maltose, succinato, nitrato de amônio, cloreto de amônio, caseína, extrato de levedura e triptona) em culturas mistas de bactérias anaeróbias facultativas alimentadas com 300 mg L⁻¹ de LAS.

Duarte et al. (2010) avaliaram a remoção de LAS em reator HAIB em TDH de 12 h, e alimentado com 14 ± 1 mg L⁻¹ de LAS comercial. Os autores obtiveram eficiências de remoção de 68% e 91%, com e sem a adição de co-substratos (extrato de levedura, amido, sacarose e solução de sais), respectivamente.

Delforno et al. (2014), ao retirar os co-substratos (extrato de levedura, metanol e etanol) da alimentação, observaram o aumento da eficiência de remoção do LAS, a qual passou de 76%, respectivamente para 11 ± 5 mg L⁻¹ e 12 ± 3 mg L⁻¹ de LAS afluenta. Os autores aplicaram TDH de 38 h, sendo o sistema alimentado com água residuária de lavanderia diluída em água de abastecimento (Tabela 3.1).

Em reator anaeróbio operado em batelada sequencial, alimentado com 22 mgLAS L⁻¹, Duarte et al. (2010) também observaram maior degradação de LAS na ausência de co-substratos sintéticos (53%) do que na presença deles (24 - 37%). Okada et al. (2013) avaliaram a remoção de LAS em UASB (TDH de 35 h) para diferentes proporções de co-substratos (metanol, etanol e extrato de levedura), com concentrações de DQO afluenta variando de 3.458 a 57 mgDQO L⁻¹. De acordo com esses autores, a maior eficiência de remoção do LAS (76%) foi relatada para o reator com menor adição de co-substratos, ou seja, 57 mgDQO L⁻¹ afluenta.

Esposito et al. (2012) verificaram que a co-digestão de diferentes compostos orgânicos pode resultar em efeitos sinérgicos, de tal forma que a biodegradabilidade do surfactante aumente quando comparada a degradação destes compostos separadamente. Desta forma, a adição de co-substratos facilmente degradáveis fornece melhores condições ambientais aos microrganismos. Porém, provavelmente

as substâncias facilmente degradáveis serão preferidas no metabolismo, quando comparadas ao tóxico (Okada et al., 2013).

A Carga Orgânica Volumétrica (COV) indica a quantidade de substrato disponível por unidade de volume do reator. Este parâmetro variou de 39 a 1360 mgDQO L⁻¹ d⁻¹ em estudos utilizando substratos sintéticos e de 80 a 840 mgDQO L⁻¹ d⁻¹ em estudos nos quais esta adição não ocorreu (Tabela 3.1). Percebe-se que não há uma correlação direta entre COV e eficiência de remoção do surfactante. Porém Ferguson et al. (2016) relataram que a variação na COV está relacionada não a eficiência de remoção de substrato, mas sim, à estabilidade do reator naquelas condições e sua capacidade de retornar ao equilíbrio após alguma perturbação. Desta forma, este parâmetro pode ser usado para influenciar a estrutura da comunidade microbiana na otimização da digestão anaeróbia.

3.2.2 Sulfeto

Delforno et al. (2015) reportaram a relação do aumento da concentração de sulfeto no efluente do reator com a diminuição das eficiências de remoção de LAS. Os autores operaram reator EGSB escala de bancada, alimentado com água residuária de lavanderia comercial diluída em água para abastecimento, e concentrações de LAS afluente de $12,0 \pm 3,2$ mg L⁻¹ e $28,8 \pm 6,4$ mg L⁻¹ nas etapas II e III, respectivamente. Os autores observaram que com o aumento da concentração de sulfeto efluente da etapa II ($1,8$ mgS⁻² L⁻¹) para etapa III ($20,3$ mgS⁻² L⁻¹) houve a diminuição da eficiência média de remoção do LAS de 93% para 59%. Além disso, durante a etapa III, nos dias de operação com aumento da concentração de sulfeto (<20 mgS⁻² L⁻¹) verificaram remoção do LAS abaixo de 40%, enquanto eficiências de remoção de 85% foram obtidas para concentração de sulfeto de 1 mgS⁻² L⁻¹. Esta susceptibilidade da microbiota responsável pela degradação do LAS ao sulfeto pode ter ocorrido devido a inibição por competição entre as bactérias redutoras de sulfato (BRS) e as que degradam o LAS, caso ambas utilizem o sulfato como substrato. Todavia, pode ter ocorrido também a inibição não competitiva, por toxicidade, ou seja, pelo sulfeto resultante do metabolismo das BRS ser tóxico à microbiota que degrada o LAS.

3.2.3 Reator Anaeróbio de Leito Granular Expandido

Os reatores biológicos de leito de lodo expandido (EGSB) são considerados umas das mais recentes inovações tecnológicas no tratamento de águas residuárias, concebidos no âmbito dos chamados reatores não convencionais. Nos últimos anos vem crescendo a implantação destes reatores em estações de tratamento de esgoto doméstico e água residuária industrial (Gao et al., 2015; Sheldon e Erdogan, 2016).

O leito de lodo granulado do reator EGSB tem características transicionais entre sólido e líquido, devido as elevadas velocidades ascensionais do líquido, obtidas aplicando elevadas vazões de recirculação. Por meio da aplicação desta configuração reacional tem-se melhor agitação hidráulica do leito de lodo granulado, e melhora do contato biomassa-água residuária (Kato et al., 1994).

Aspectos positivos desta configuração de reator são os seguintes: possibilidade de controle e otimização da espessura do biofilme, em TDH relativamente baixo; elevada eficiência de remoção; operação em regime contínuo e intermitente; além de demandar pequenas áreas e volumes. Aplicar a recirculação do efluente na operação destes reatores tem os seguintes efeitos favoráveis: atenuação das variações de cargas; distribuição espacial da carga torna-se mais uniforme; permite utilizar a alcalinidade para neutralizar efluentes; e reduz a concentração de compostos tóxicos ao diluí-los (Horváth, 1994; Narayanan et al., 1995).

Delforno et al. (2012) avaliaram a remoção de 14 mg L^{-1} de LAS comercial em reator EGSB na presença de co-substratos, como metanol e etanol em meio mineral. Os autores obtiveram eficiência de remoção de LAS de 48% e 64% ao aplicar TDH de 26 h e 32 h, respectivamente. Ao realizar caracterização da biomassa dos grânulos, os autores observaram a predominância de diferentes populações microbianas na manta de lodo (bactérias pertencentes ao filo Synergistes e Proteobacteria) e no separador de fases do reator (bactérias pertencentes ao filo Firmicutes e Proteobacteria).

Delforno et al. (2014) obtiveram 93% e 59% de eficiência na remoção de LAS, para 12 e 29 mg L^{-1} no afluente, respectivamente, em reator EGSB em TDH de 39 h, alimentado com água residuária de lavanderia comercial diluída em água de abastecimento. Os autores identificaram 33 gêneros relacionados à degradação

biológica do LAS e 14 relacionados à degradação de compostos aromáticos, dentre os 175 gêneros identificados.

Faria (2015) avaliou a eficiência de remoção de LAS de água residuária de lavanderia comercial em co-digestão com esgoto doméstico em reator EGSB em escala de bancada. As etapas de operação I, II e III foram caracterizadas por alimentação com água residuária de lavanderia diluída em água para abastecimento e bicarbonato de sódio com $15,3 \pm 4,9 \text{ mg L}^{-1}$ de LAS afluente; água residuária de lavanderia comercial diluída em esgoto doméstico e água de abastecimento com $15,8 \pm 4,9 \text{ mg L}^{-1}$ de LAS afluente; e água residuária de lavanderia comercial diluída apenas em esgoto doméstico com $24,1 \pm 4,1 \text{ mg L}^{-1}$ de LAS afluente, respectivamente. A autora obteve eficiências de remoção de LAS de 77%, 74% e 55%, respectivamente. Desta forma, a autora destacou que a eficiência de remoção do surfactante na última etapa foi satisfatória, apesar da significativa redução.

Granatto (2017) operou reator EGSB em escala piloto alimentado com esgoto sanitário da cidade de São Carlos por 314 dias e obteve $60 \pm 30\%$ de eficiência de remoção para $7,3 \pm 3,8 \text{ mg L}^{-1}$ de LAS afluente. Além do surfactante, a autora reportou também a presença de 8 compostos recalcitrantes e 8 metais potencialmente tóxicos na caracterização do esgoto sanitário.

Desta forma, tem-se o EGSB como tecnologia adequada à remoção anaeróbia de LAS, tanto pelas características hidráulicas, como pela eficiência na remoção já reportadas na literatura. Os reatores dos estudos listados na Tabela 3.1, com exceção de Granatto (2017), foram realizados em escala de bancada. A eficiência de remoção de LAS de reatores em escala de bancada pode reduzir pela metade quando a escala do reator é ampliada (Krueger et al., 1998). Desse modo, é atrativa a avaliação da remoção e degradação do LAS em reatores em escala piloto.

3.2.4 Caracterização Microbiana

Denge e Cook (1999) realizaram, em laboratório, a dessulfonação da molécula de LAS utilizando bactérias anaeróbias. Lara-Martín et al. (2010) reportaram a rota de degradação anaeróbia do LAS a partir da análise dos compostos intermediários formados neste processo. Estes compostos foram identificados por cromatografia líquida de alta performance (HPLC) e cromatografia líquida de ultra performance

(UPLC), ambas associadas a espectrofotometria de massa (MS) (Figura 3.2). Delforno et al. (2014) reportaram possível relação sintrófica entre os micro-organismos. Por exemplo, identificaram gêneros responsáveis pela dessulfonação da molécula do LAS (*Acinetobacter*, *Desulfovibrio* e *Pseudomonas*); outros relacionados à degradação da cadeia alquílica (*Azoarcus*, *Geobacter* e *Synergistes*); e degradação do anel aromático (*Mycobacterium*, *Sporomusa* e *Stenotrophomonas*).

Figura 3.2: Rota de degradação anaeróbia do Alquilbenzeno Linear Sulfonado (Lara Martin et al., 2010)

A caracterização dos microrganismos dos reatores anaeróbios contínuos utilizados no tratamento de águas residuárias contendo LAS por sequenciamento RNAr 16s também vem sendo realizada no Laboratório de Processos Biológicos (LPB-EESC-USP). Os gêneros relacionados à degradação de LAS e/ou compostos aromáticos encontrados nesta literatura com abundância relativa significativa (>1%) encontram-se resumidos na Tabela 3.2. Em sete dos oito estudos descritos na Tabela 3.2, destaca-se a identificação de bactérias semelhantes a *Zoogloea*. Neste gênero estão incluídas as bactérias aeróbias facultativas com capacidade de desnitrificação, e é muito conhecido por conseguir degradar aromáticos, facilmente encontrado em ambientes com elevadas concentrações de matéria orgânica, como estações de tratamento de águas residuárias (Brenner et al., 2005). Jin et al. (2006) utilizaram estes microrganismos para degradar óleo lubrificante em reator anaeróbio, e conseguiram altas eficiências de remoção em TDH de 12 h.

Dentre as oito pesquisas analisadas, em cinco delas foram identificadas bactérias semelhantes a *Geobacter* e *Holophaga*, respectivamente. Os organismos do gênero *Geobacter* estão relacionados à redução biótica do Ferro(III) a Ferro (II), na presença de sulfeto ou de compostos como hidroxilamina (Widdel et al., 1993). As bactérias do gênero *Holophaga* são capazes de degradar o LAS a acetato (Krieg et al., 2010), e estiveram mais abundantes em meios onde substratos sintéticos não foram

adicionados (Motteran et al., 2017). Em quatro das pesquisas foram identificadas bactérias semelhantes ao gênero *Desulfobulbus*, que reduzem o sulfato a sulfeto e estão presente nos estudos que utilizaram água residuária de lavanderia comercial, pois este efluente possui elevadas concentrações de sulfato (Braga et al., 2015).

Tabela 3.2: Gêneros relacionados a degradação de LAS e/ou compostos aromáticos relatados na literatura.

	Okada et al. (2013)	Braga et al. (2015)	Delforno et al. (2015)	Macedo et al. (2015)	Motteran et al. (2017)	Andrade et al. (2017)	Granatto (2017)
<i>Aeromonas</i>			X		X		
<i>Bdellovibrio</i>		X					
<i>Chelatococcus</i>			X				
<i>Clostridium</i>							X
<i>Comamonas</i>	X			X			
<i>Dechloromonas</i>	X	X		X			
<i>Desulfobulbus</i>		X	X		X	X	
<i>Desulfomonile</i>			X				
<i>Desulfovibrio</i>	X						X
<i>Ferruginibacter</i>	X	X			X		
<i>Gemmatimonas</i>	X			X	X		
<i>Geobacter</i>		X	X	X	X		X
<i>Georgfuchsia</i>				X			
<i>Holophaga</i>	X	X	X		X		
<i>Nitrosomonas</i>		X			X		
<i>Rhodanobacter</i>	X	X					
<i>Parvibaculum</i>	X						
<i>Phenylobacterium</i>					X		
<i>Pseudomonas</i>	X		X	X			
<i>Sporomusa</i>	X		X		X		
<i>Stenotrophomonas</i>			X		X		
<i>Synergistes</i>	X				X		X
<i>Syntrophobacter</i>			X				
<i>Syntrophorhabdus</i>			X		X		X
<i>Syntrophus</i>							X
<i>Zoogloea</i>	X	X	X	X	X	X	

3.3 Atividade Metanogênica Específica e Biodegradabilidade

A atividade metanogênica específica (AME) pode ser definida como a capacidade máxima de produção de metano por consórcio de microrganismos anaeróbios, realizada em condições controladas de laboratório, para viabilizar a

atividade bioquímica máxima de conversão de substratos orgânicos a biogás. A determinação da capacidade do lodo anaeróbio em produzir metano é importante porque a remoção de elétrons equivalentes, ou seja, compostos reduzidos causadores da demanda química de oxigênio (DQO), da água residuária a ser tratada só ocorrerá de fato com a formação do metano, que por ser praticamente insolúvel em água, escapa facilmente da fase líquida (Aquino et al., 2007). Este ensaio se difere daquele de biodegradabilidade apenas na composição do substrato inicial do teste em batelada, que é facilmente degradável no AME (glicose ou mistura de ácido acético, propiônico e butírico). Enquanto na biodegradabilidade, prepara-se a alimentação com a água residuária a ser estudada (Souza et al., 2005).

Angelidaki et al. (2000) reportaram a influência da fonte de amostra ambiental, na degradação de compostos xenobióticos. Garcia et al. (2006b) avaliaram a influência da fonte do inóculo na digestão anaeróbia do LAS, além da interferência da adição de surfactante na produção de metano. Em todos os ensaios para concentração inicial de LAS padrão (comercial) de 32 mg L^{-1} e inóculo proveniente de diferentes Estações de Tratamento de Água Residuária (ETAR), os autores verificaram eficiência de remoção de LAS de 4-22% e inibição da atividade metanogênica de 4-26% quando comparada ao ensaio controle (sem a adição de LAS).

García-Morales et al. (2001) operaram reatores anaeróbios em batelada inoculados com lodo proveniente de reator anaeróbio de mistura completa (CSTR) usado no tratamento de vinhaça de vinho em condições termofílicas. Nos ensaios de avaliação da atividade acidogênica, os autores variaram a concentração inicial de LAS de $0-50 \text{ mg L}^{-1}$ com $0,18 \text{ gSSV L}^{-1}$ de biomassa inoculada e concentração inicial de substrato (glicose) de $2,22 \text{ g L}^{-1}$. Enquanto nos ensaios de atividade metanogênica a concentração inicial de LAS foi de $0-10 \text{ mg L}^{-1}$ com $0,51 \text{ gSSV L}^{-1}$ de biomassa e concentração inicial de substrato (acetato) de $1.500 \text{ mgDQO L}^{-1}$. Foi relatada cinética de inibição em ambos os ensaios, no entanto, o efeito inibitório desse surfactante foi maior em arqueias metanogênicas quando comparadas as bactérias acidogênicas.

Motteran et al. (2014) avaliaram o potencial metanogênico de lodo anaeróbio proveniente de UASB usado no tratamento de água residuária de suinocultura. O substrato inicial foi preparado com água residuária de lavanderia comercial como

fonte de LAS, bicarbonato de sódio e substratos sintéticos (extrato de levedura, sacarose e solução de sais). Os autores reportaram que o aumento de LAS de 16 para 75 mg L⁻¹ aumentou em 23% a produção de metano. Todavia, o aumento na concentração de surfactante reduziu o índice de similaridade, tanto para o domínio Bacteria, quanto para o domínio Archaea.

Souza et al. (2016) estudaram o efeito da concentração inicial de LAS na atividade metanogênica de reatores em batelada alimentados com ácidos butírico, propiônico e acético (3 gDQO L⁻¹), além da solução de LAS padrão. Os autores verificaram 30% de redução na produção de metano para concentrações iniciais de até 10 mgLAS L⁻¹, enquanto para 30, 50, 75 e 100 mgLAS L⁻¹ a redução foi de 44-97%. Quando comparada a produção de metano em ensaios sem a adição do surfactante.

Desta forma, no presente estudo, realizou-se ensaios em batelada com o lodo do reator EGSB escala piloto ao final da operação, a fim de avaliar a atividade metanogênica específica (AME), ou seja, a capacidade dos microrganismos presentes neste lodo em produzir metano a partir de substratos de fácil degradação (ácidos acético, butírico de propiônico). Foram realizados também, ensaios para mensurar a atividade metanogênica deste lodo a partir dos substratos que foram utilizados na alimentação do reator, aos quais os microrganismos já estavam adaptados (co-digestão água residuária de lavanderia comercial e esgoto doméstico).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi dividida em quatro etapas. Na primeira etapa ocorreu a reativação dos microrganismos do lodo granulado, por meio da alimentação do reator com esgoto doméstico. A duração desta etapa foi de aproximadamente 60 dias. Nas etapas seguintes, a alimentação do reator foi preparada diluindo-se a água residuária de lavanderia comercial em esgoto doméstico, de forma a obter concentrações de aproximadamente 5, 20 e 30 mg L⁻¹ de LAS na composição afluyente. As atividades realizadas nessa pesquisa estão delineadas no fluxograma experimental da Figura 4.1.

Figura 4.1: Fluxograma Experimental

4.1 Coleta e Caracterização da Água Residuária de Lavanderia Comercial e Esgoto Doméstico

A coleta do descarte das máquinas de lavar roupa foi realizada em lavanderia comercial situada em São Carlos-SP. A água do primeiro enxágue era coletada em frascos de poliuretano de alta densidade de 20 L, e armazenada em câmara fria a 4°C. Essa água foi diluída em esgoto doméstico, de forma a obter a concentração de LAS desejada no afluyente do reator. A coleta de novos lotes de água residuária de lavanderia comercial ocorreu a cada duas semanas. O esgoto doméstico foi coletado

contínua e diretamente de um interceptor do esgoto gerado no bairro próximo ao Campus 2 da USP - São Carlos.

Todas as amostras de água residuária coletadas da lavanderia comercial, assim como as de esgoto doméstico, foram caracterizadas quanto à concentração de LAS, além de parâmetros como pH, alcalinidade, demanda química de oxigênio (DQO), sólidos, nitrogênio total Kjeldahl (NTK), sulfato, sulfeto e nitrato (Tabela 4.1).

Tabela 4.1: Parâmetros para caracterização da Água Residuária de Lavanderia Comercial

Parâmetro	Método	Referência
Ácidos orgânicos voláteis	CLAE	Lazaro et al. (2008)
Alcalinidade	Titulométrico	APHA (2005)
DQO	Espectrofotométrico	APHA (2005)
Sulfato e nitrato	Turbidimétrico	APHA (2005)
LAS	CLAE	Duarte et al. (2006).
Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK)	Titulométrico	APHA (2005)
pH	Potenciométrico	APHA (2005)
Sólidos dissolvidos, suspensos (membrana 0,45 µm) e totais	Gravimétrico	APHA (2005)
Sulfeto	Espectrofotométrico	APHA (2005)

4.2 Reator Anaeróbio de Leito Granular Expandido

O reator EGSB foi confeccionado em acrílico, na região de expansão, e em PVC, com altura de 3,5 m e 150 mm de diâmetro, totalizando volume útil de 62,0 L. Este reator possuía um distribuidor de vazão na sua base e um dispositivo no topo para garantir a separação entre as fases sólida, líquida e gasosa. Além de doze pontos de amostragem igualmente espaçados ao longo do reator (Figura 4.2). A expansão do leito foi mantida em torno de 30% do leito estático inicial e o TDH foi de aproximadamente 40 horas. 12,0 L de inóculo de lodo granulado foram adicionados no reator, proveniente de reator UASB usado no tratamento de água residuária de abatedouro de aves (Avícola Céu Azul S/A, Sorocaba/SP).

software (Del Nery et al., 2016). Os dados foram exportados ao Microsoft Office Excel, para tratamento estatístico.

Figura 4.3: Pontos de amostragem da granulometria do leito de lodo ao final da operação do reator EGSB escala piloto

4.4 Análises Físico-Químicas e Cromatográficas

Foram realizadas análises de monitoramento temporal do reator EGSB. Amostras do afluente e efluente do reator EGSB foram analisadas seguindo a frequência e parâmetros apresentados na Tabela 4.2. As condições cromatográficas empregadas no HPLC estão descritas na Tabela 4.3, antes de sua injeção, as amostras foram filtradas em membrana de 0,2 μm , para evitar o acúmulo de impurezas na coluna.

Tabela 4.2: Análises de monitoramento do reator

Análise	Método	Frequência	Referências
Alcalinidade ($\text{mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$)	Titulométrico	2X semana	APHA (2005)
DQO bruta (mg L^{-1})	Espectrofotométrico	2X semana	APHA (2005)
LAS (mg L^{-1})	Cromatográfico HPLC	2X semana	Duarte et al. (2006)
Sulfeto (mg L^{-1})	Espectrofotométrico	2X semana	APHA (2005)
pH	Potenciométrico	2X semana	APHA (2005)
Sólidos Totais Voláteis (mg L^{-1})	Gravimétrico	1X semana	APHA (2005)
Vazão (mL h^{-1})	Volumétrico	Diariamente	-

Tabela 4.3: Condições cromatográficas para quantificação do LAS

Coluna	C-8 Supelco, 5 μm , 15 cm x 4,6 mm
Solvente A (30%)	NaClO_4 0,075 M
Solvente B (70%)	MeOH puro
Fluxo	0,5 mL min^{-1}
Detector	Fluorescência com λ excitação 225 nm e λ emissão 290 nm
Forno	35°C

4.5 Análise Qualitativa por CG-EM

A fim de complementar a caracterização da água residuária de lavanderia comercial e do esgoto doméstico, além de avaliar a eficiência de remoção do reator EGSB em relação a compostos tóxicos, realizou-se uma análise complementar por cromatografia gasosa acoplada a espectrofotometria de massa (CG-EM) de uma amostra do esgoto doméstico, da água residuária de lavanderia comercial e do efluente ao reator EGSB escala piloto. As análises por CG-EM foram realizadas pela empresa Central Analítica localizada no Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas em Campinas, SP.

4.6 Extração de LAS adsorvido

A extração de LAS adsorvido foi realizada segundo a metodologia modificada por Duarte et al. (2006). Devido às características adsorptivas do LAS, e com o objetivo de fechar o balanço de massa desse surfactante, ao final da operação do reator EGSB, foi realizada a extração de LAS adsorvido na biomassa do leito em triplicata.

4.7 Caracterização Microbiana

4.7.1 Extração de DNA

A extração de DNA foi realizada pela metodologia do kit comercial de extração por membrana filtrante “Power Soil DNA Isolation Kit” da MO BIO.

4.7.2 Sequenciamento do gene RNAr 16s

O sequenciamento do gene RNAr 16S foi realizado por meio da plataforma Illumina MiSeq na empresa de Biologia Molecular “Mr. DNA”, localizada na cidade de Shallowater, Texas, Estados Unidos. Para tanto, as amostras foram enviadas com concentração mínima de $10 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ e pureza OD 260/280 de aproximadamente 1,8. Foram utilizados os iniciadores 515F e 806R, que amplificam a região variável V4 do gene RNAr 16S (Caporaso et al., 2012).

O pré-processamento das sequências, realizado em Software CASAVA 1.8.2, primeiramente filtrou as sequências para a remoção do adaptador, *barcodes*, iniciadores e sequências menores que 200 bps ou contendo ‘N’ ambíguo (Software Seqclean). O valor mínimo adotado para Q(phred) foi de 24 (Phred Quality).

O alinhamento das sequências foi realizado de acordo com Pynast (Caporaso et al., 2010). Para determinar as Unidades Taxinômicas Operacionais (OTU) foi utilizado o “agrupamento hierárquico”, com similaridade de 97%. *Singletons* (OTU com apenas uma sequência), que podem representar erros de sequenciamento, foram removidas (Dickie, 2010).

O RDP-Classifer foi utilizado para classificação taxonômica das sequências representativas de cada OTU. Os limites confiáveis foram de 80% para gênero e 50% para outros níveis taxonômicos (Filo ou Família). As diversidades Alfa (Chao1, Shannon, Simpson e Domínio) e Beta (índice de dissimilaridade Bray-Curtis) foram quantificadas utilizando o software Past (Hammer, 2001). Para isso, a base de dados foi normalizada utilizando o script QIIME (Caporaso et al., 2010). As sequências geradas neste estudo foram depositadas no Arquivo de Nucleotídeos Europeu.

4.8 Atividade Metanogênica Específica e Biodegradabilidade

Para mensurar a Atividade Metanogênica Específica (AME) do lodo ao final da operação do reator EGSB escala piloto, realizou-se testes em reator em batelada com 3 gDQO L⁻¹ de ácidos acético, butírico e propiônico. Estes ácidos são facilmente degradados e substratos ideais para produção de metano. O ensaio de biodegradabilidade é similar, porém o substrato utilizado foi o mesmo da alimentação na operação do reator EGSB (água residuária de lavanderia comercial diluída em esgoto doméstico).

Martins (2015) desenvolveu uma metodologia composta por um protocolo rápido e preciso utilizando o método manométrico com Oxitop®. O sistema Oxitop® é um equipamento manométrico que consiste de um frasco de vidro com duas aberturas laterais (Figura 4.4a), provido de um transdutor de pressão localizado em um cabeçote de medição, selado por um septo de borracha e por uma válvula de teflon hermético, que são utilizados para injeções de substrato e para a descarga de biogás.

Durante os testes, os frascos são mantidos em estufa a temperatura controlada e agitação (200 rpm). A sobrepressão devida à acumulação de biogás no *headspace* é automaticamente registrada pelos cabeçotes de medição (Figura 4.4b). O cálculo do biogás gerado é realizado a partir de dados acumulados de sobrepressão, levando-se em consideração o volume do *headspace*, temperatura de incubação e equação de estado de um gás ideal.

Figura 4.4: Foto ilustrativa dos acessórios do sistema Oxitop®: (a) frasco utilizado nos ensaios; e (b) cabeçote que determina e armazena os dados de pressão.

(a)

(b)

No ensaio de AME preparou-se os frascos em triplicata, aos quais foram adicionados 19 g de lodo amostrado do leito de lodo do reator EGSB escala piloto ao final da operação, completou-se até 100 mL com água destilada, e adicionou-se 200 μL de solução de macro e micronutrientes (Tabela 4.4), além da mistura de ácidos (Tabela 4.5), resultando em 3 gDQO L^{-1} . Para o ensaio de biodegradabilidade, adicionou-se 1 g deste mesmo lodo e completou-se com a proporção de 80 mL de esgoto sanitário e 20 mL de água de lavanderia comercial, para obtenção da concentração inicial de surfactante igual aquela aplicada na Etapa III da operação contínua do EGSB ($21,2 \pm 0,5 \text{ mgLAS L}^{-1}$), resultando em 538 mgDQO L^{-1} .

Tabela 4.4: Composição da solução de macro e micronutrientes

Solução I: Macronutrientes	Massa em 1,0 L
NH_4Cl	73,6 mg
KH_2PO_4	13,6 mg
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	13,6 mg
Solução II: Micronutrientes	
$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2000 mg
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2000 mg
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	500 mg
$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	30 mg
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	50 mg
$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	10 mg
$\text{ZnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	50 mg
H_3PO_3 (solução saturada)	1 mL

Tabela 4.5: Solução estoque concentrada de ácidos orgânicos utilizados como substrato

Solução	Massa em 50 mL (g)	Concentração da solução (g L^{-1})
Acetato de sódio	4,69	93,8
Propionato de sódio	3,307	66,14
Butirato de sódio	2,753	55,06

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da Água Residuária de Lavanderia Comercial e Esgoto Doméstico

Foram analisadas 34 amostras de água residuária de lavanderia comercial e 34 amostras de esgoto doméstico. Os parâmetros médios da caracterização da água residuária de lavanderia comercial e do esgoto doméstico encontram-se resumidos na Tabela 5.1. Em geral, houve grande variação nos parâmetros, tanto da água residuária de lavanderia comercial, quanto do esgoto doméstico, ao longo do ano. Tolksdorf e Cornel (2017) relataram que as variações nas características tanto da água cinza (água residuária da cozinha, lavanderia, pia e chuveiro dos banheiros) quanto da água negra (água residuária do vaso sanitário de banheiros), podem dificultar o seu processo de tratamento.

Em relação ao LAS do esgoto doméstico e água residuária de lavanderia comercial constatou-se $5,0 \pm 3,4 \text{ mg L}^{-1}$ e $95,0 \pm 52,9 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente (Figura 5.1). Atribuiu-se a ampla variação nas concentrações de LAS da água residuária, ao controle de dosagem dos produtos de limpeza usados na lavanderia comercial. A variação da concentração de LAS observada no presente estudo foi de 1,2 a 290,4 mg L^{-1} , menor que a relatada em estudos anteriores, entre 12 e 1.024 mg L^{-1} (Braga e Varesche, 2014). Okada et al. (2013) e Delforno et al. (2014) coletaram amostras de lavanderia comercial também situada na cidade de São Carlos e observaram $216 \pm 77 \text{ mg L}^{-1}$ e $119 \pm 53 \text{ mg L}^{-1}$ de LAS, respectivamente.

Figura 5.1: Boxplot da concentração de LAS da água residuária de lavanderia comercial e do esgoto doméstico

A DQO observada para a água residuária de lavanderia foi de $712 \pm 248 \text{ mg L}^{-1}$, sendo 24% da matéria orgânica composta por ácidos orgânicos voláteis (AOV) e 7% composta por alcoóis (metanol, etanol e n-butanol). Em relação ao esgoto doméstico verificou-se $317 \pm 132 \text{ mgDQO L}^{-1}$, sendo 46% e 19% desta concentração de matéria orgânica composta por AOV e alcoóis, respectivamente (Figura 5.2). Desta forma, além da possibilidade de diluição da água residuária de lavanderia tem-se o esgoto doméstico como fonte adicional de substratos para a atividade microbiana. A variação de concentração da matéria orgânica na água residuária de lavanderia comercial foi significativamente menor, em relação aquela obtida por Braga e Varesche, (2014); ou seja, de 415 a 4.474 mg L^{-1} . Por outro lado, observou-se que os valores de DQO do esgoto doméstico desse estudo foram condizentes com as concentrações relatadas por Noyan et al. (2017), de 340 a 477 mg L^{-1} .

Figura 5.2: Boxplot da concentração de DQO da caracterização da água residuária de lavanderia comercial e esgoto doméstico.

Em relação aos ácidos orgânicos voláteis, em ambos os efluentes caracterizados observou-se o predomínio do ácido acético ($62,1 \pm 119,9 \text{ mg L}^{-1}$ na água residuária de lavanderia e $19,4 \pm 16,0 \text{ mg L}^{-1}$ no esgoto doméstico) e ácido valérico ($32,9 \pm 17,4 \text{ mg L}^{-1}$ na água de lavanderia e $37,9 \pm 16,8 \text{ mg L}^{-1}$ no esgoto doméstico). Assim como, constatou-se em menores concentrações, ácido propiônico, ácido butírico, ácido isobutírico, ácido isovalérico e ácido capróico (Figuras 5.3 e 5.4). A metanogênese acetotrófica contribui em 70% da produção de metano, enquanto a hidrogenotrófica com apenas 30%, ressaltando a importância da presença de ácido acético como substrato (Jiang et al., 2017).

Figura 5.3: Boxplot da caracterização de AOV da água residuária de lavanderia comercial

Figura 5.4: Boxplot da caracterização de AOV do esgoto doméstico

A alcalinidade parcial e total da água residuária de lavanderia comercial foi de $149 \pm 126 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ e $203 \pm 152 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$, respectivamente. Provavelmente, a alcalinidade foi provocada pelo hidróxido de sódio do detergente industrial usado na lavanderia. Braga e Varesche, (2014) observaram pH ácido, entre 3,3 e 6,9, e, consequentemente, alcalinidade total menor, de até $82 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$. Essa diferença de pH atribuiu-se a diferença dos produtos usados nas lavanderias comerciais, uma vez que há opção de detergentes alcalinos e ácidos para lavagem de roupas.

A alcalinidade parcial e total do esgoto doméstico foi de $119 \pm 25 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ e $190 \pm 33 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$, respectivamente. Verificou-se pH próximo a neutralidade; ou

seja, de $6,8 \pm 0,1$. Granatto (2017) caracterizou o esgoto sanitário da ETE Monjolinho de São Carlos - SP e obteve média de 133 ± 19 e 216 ± 22 $\text{mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ para alcalinidade parcial e total, respectivamente. Além disso, a autora verificou maiores variações no valor de pH, cujo valor máximo foi de 7,5 e mínimo de 6,9.

A presença de fibras de roupas em virtude do seu desprendimento durante o processo de lavagem e a sua baixa biodegradabilidade (Arshad e Murjahid, 2011) resultaram na concentração de sólidos totais de $83,6 \pm 58,0$ mg L^{-1} na água residuária de lavanderia comercial deste estudo. A média observada foi próxima àquela obtida por Braga e Varesche (2014) de 80 ± 60 mg L^{-1} . Al-Jayyousi (2003) concluiu que grande parcela dos contaminantes da água cinza está dissolvida, pois a concentração de sólidos suspensos nesta água residuária é baixa. No esgoto doméstico, a concentração média de sólidos totais foi de $7,6 \pm 13,0$ mg L^{-1} . Esta elevada variação já era esperada pois em épocas de estiagem há o acúmulo de sólidos nas redes de coleta, e quando ocorre a primeira chuva, apesar de ser sistema separador, há infiltração da água pluvial, a qual arrasta os sólidos acumulados. Desse modo, é então perceptível o aumento significativo na concentração de sólidos no esgoto doméstico após este período denominado "primeira lavagem" (Sobrinho e Tsutiya, 1999).

Segundo Gray e Becker (2002), a água cinza contribui com apenas 7,7% da carga de nitrogênio total e com 2,3% da carga de amônia de uma residência. Em relação ao Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK) na água residuária de lavanderia comercial observou-se $11,6 \pm 2,9$ mgN L^{-1} ; ou seja, média inferior aquela observada por Braga e Varesche (2014) de 32 ± 26 mgN L^{-1} . Cerca de 20% da composição foi referente ao nitrogênio orgânico, disponível para possível amonificação no reator, representando portanto fonte de substrato. No esgoto doméstico, a concentração nitrogênio total foi de $81,2 \pm 17,9$ mgN L^{-1} , sendo cerca de 40% referente ao nitrogênio orgânico.

Tabela 5.1: Valores médios de caracterização da água residuária de lavanderia e esgoto doméstico

Parâmetros (mg L ⁻¹)	Água Residuária de Lavanderia Comercial	Esgoto doméstico
DQO	745±152	317±132
LAS	95,0±52,9	5,0±3,4
Alcalinidade Parcial	190±38	119±25
Alcalinidade Total	227±47	190±33
pH*	8,9±1,3	6,8±0,1
Sulfato	535±149	72±49
Nitrogênio Amoniacal	9,4±2,3	46,9±12,7
Nitrogênio Orgânico	2,2±0,6	34,3±5,2
Sólidos Totais	83,6±58,0	7,6±13,0
Ácidos Orgânicos Voláteis (AOV)	Acético	62,1±119,9
	Propiônico	3,6±2,7
	Isobutírico	11,4±4,8
	Butírico	7,6±2,8
	Isovalérico	10,4±0,2
	Valérico	32,9±17,4
	Capróico	5,9±1,8
	Equivalente em DQO	179,1±97,3
	Equivalente em Ácido Acético	167,4±90,9
Cetona e Alcóois	Acetona	0,46±0,01
	Metanol	11,38±0,05
	Etanol	8,51±1,13
	n-Butanol	16,83±11,08
	Equivalente em DQO	54,6±27,1

*adimensional

5.2 Monitoramento do Reator EGSB

5.2.1 Alcalinidade e pH

A alcalinidade e pH foram analisados semanalmente, pois os microrganismos se desenvolvem melhor em relação alcalinidade intermediária/alcalinidade parcial (AI/AP) próxima a 0,3 e em pH próximo a neutralidade (pH 7). Sendo assim, a remoção será maior nestas condições (Ripley et al., 1986). Além disso, pH muito baixo ou muito

alto pode levar a morte ou inibição dos microrganismos comprometendo a eficiência do reator.

Verificou-se para o pH afluente e efluente entre 6,8-7,5 e 7,7-7,9, respectivamente, durante todas as etapas. Em média, observou-se aumento do pH efluente em relação ao afluente, ou seja, não houve acidificação significativa do reator. Além disso, provavelmente a volatilização do sulfeto e gás carbônico efluente podem ter contribuído na elevação do pH. Delforno et al. (2014) também verificaram em reator EGSB metanogênico alimentado com água residuária de lavanderia comercial, com 30 mg L⁻¹ de LAS afluente e bicarbonato de sódio, pH efluente ligeiramente básico (7,8 ± 0,3).

Por meio do teste ANOVA seguido de Tukey (p<0,05) verificou-se que a relação AI/AP da Etapa IV (36 ± 19 mg L⁻¹ de LAS afluente) foi estatisticamente diferente das outras etapas. Verificou-se a menor contribuição de Ácidos Orgânicos Voláteis (AOV) na alcalinidade efluente na Etapa IV (AI/AP de 0,23 ± 0,04) em relação às etapas I, II e III com AI/AP de 0,31 ± 0,05, 0,32 ± 0,06 e 0,33 ± 0,10, respectivamente (Figura 5.5). Valores preocupantes de AI/AP seriam aqueles muito acima de 0,3, pois indicam acúmulo de ácidos, que geralmente está relacionado a redução na atividade das bactérias acetoclásticas, as quais precisam de baixa pressão de hidrogênio no meio para que seu metabolismo seja favorável, condição esta que só é garantida quando as metanogênicas e sulfetogênicas hidrogenotróficas estão a pleno vapor (Stams e Plugge, 2009). Ou seja, instabilidade no processo metanogênico (mais sensível), leva ao aumento da relação AI/AP. No entanto, na etapa IV, apesar de maior concentração de compostos recalcitrantes no afluente, o que ocorreu foi a redução na relação AI/AP. Provavelmente, por limitação metabólica desde a etapa acidogênica, ou seja, os ácidos orgânicos não chegaram nem a ser produzidos a partir do substrato; ou por maior taxa de consumo de ácidos orgânicos, que eram prontamente consumidos quando gerados.

Observou-se valores muito próximos para a relação AI/AP; ou seja, de 0,31 ± 0,05, 0,32 ± 0,06 e 0,33 ± 0,10, para as etapas I, II e III, respectivamente. Aumento muito discreto foi observado para a última etapa, provavelmente, relacionado ao aumento da concentração de AOV. Destaca-se semelhança estatística entre as relações AI/AP da etapa de adaptação, Etapa II (5 ± 4 mg L⁻¹ de LAS afluente) e Etapa III (19 ± 10 mg L⁻¹ de LAS afluente), e pode-se inferir que este aumento na concentração de AOV

não foi suficiente para interferir no equilíbrio da metanogênese durante estas fases de operação do reator.

Além disso, é importante ressaltar que a alcalinidade a bicarbonato (alcalinidade parcial) foi gerada em todas as etapas, ou seja, verificou-se valores efluentes maiores que os afluentes 151 ± 46 e 119 ± 33 $\text{mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$; 135 ± 27 e 118 ± 21 $\text{mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$; 188 ± 35 e 165 ± 30 $\text{mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$; 188 ± 22 e 108 ± 57 $\text{mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ nas Etapas I, II, III e IV, respectivamente (Tabela 5.2). Tais condições foram suficientes para manter a estabilidade do reator, não tendo sido necessária a adição de bicarbonato de sódio no afluente, como em outros trabalhos (Delforno et al., 2012, Delforno et. al, 2014).

Tabela 5.2: Valores de Alcalinidade e pH

Etapa	Amostra	Alcalinidade Parcial ($\text{mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$)	Alcalinidade Total ($\text{mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$)	pH	AI/AP
I	Afluente	119 ± 33	190 ± 70	$6,8 \pm 0,2$	$0,64 \pm 0,19$
	Efluente	151 ± 46	175 ± 63	$7,8 \pm 0,1$	$0,31 \pm 0,05$
II	Afluente	118 ± 21	195 ± 41	$7,2 \pm 0,3$	$0,59 \pm 0,20$
	Efluente	135 ± 27	177 ± 32	$7,8 \pm 0,1$	$0,32 \pm 0,06$
III	Afluente	165 ± 30	238 ± 42	$7,5 \pm 0,3$	$0,45 \pm 0,13$
	Efluente	188 ± 35	249 ± 47	$7,7 \pm 0,2$	$0,33 \pm 0,10$
IV	Afluente	108 ± 57	138 ± 89	$7,5 \pm 0,2$	$0,39 \pm 0,22$
	Efluente	188 ± 22	237 ± 29	$7,9 \pm 0,1$	$0,23 \pm 0,04$

Figura 5.5: Boxplot da relação AI/AP efluente do reator EGSB escala piloto

5.2.2 Sólidos Totais

Por meio da análise de sólidos totais na manta de lodo tem-se a concentração inicial de biomassa inoculada no reator. Enquanto, por meio da concentração de sólidos totais efluente verifica-se o arraste da biomassa e se parte não foi hidrolisada no interior do reator (Alvarino et al., 2014).

Notou-se aumento da concentração de sólidos totais no efluente da Etapa II ($0,036 \pm 0,014 \text{ g L}^{-1}$) para a Etapa III ($0,071 \pm 0,058 \text{ g L}^{-1}$), provavelmente, devido a maior concentração de LAS e demais compostos da água de lavanderia. A concentração de sólidos totais efluente na etapa IV foi de $0,043 \pm 0,041 \text{ g L}^{-1}$, este menor escape de sólidos em relação a etapa III mesmo com maiores concentrações afluente de surfactante está relacionado a estabilidade do leito de lodo. Oliveira et al. (2010) e Delforno et al. (2012) já haviam reportado a liberação de sólidos efluente em reatores de alta vazão de recirculação aplicados ao tratamento de LAS, nesses casos, especificamente para RALF e EGSB, respectivamente.

Neste experimento obteve-se $8,1 \text{ g ST L}^{-1}$ para biomassa inoculada ao leito do reator. Enquanto na manta de lodo ao final da operação, a concentração de sólidos totais foi de $3,5 \text{ g ST L}^{-1}$. Esta diminuição da concentração de sólidos pode estar relacionada a baixa formação de grânulos, acumulação e lenta hidrólise de sólidos suspensos, e baixa produção de biogás associadas a operação de reatores anaeróbios do tratamento de esgoto doméstico (Kalogo e Verstraete, 1999). É importante ressaltar que para biomassa na forma granulada, a parcela de polímeros extracelulares pode representar de 0,6 a 20% dos sólidos totais voláteis, enquanto, a parcela de matéria inorgânica pode corresponder entre 10 a 90% da massa seca (Schmidt e Ahring, 1996). Neste estudo, os sólidos totais voláteis corresponderam a 88% e 77% da biomassa no início e ao final da operação, respectivamente. Os valores médios das concentrações de sólidos totais estão resumidos nas Tabelas 5.3 e 5.4.

Tabela 5.3 - Sólidos totais no leito de lodo do reator EGSB escala piloto

Amostra	Sólidos Totais (ST) (g L^{-1})	Sólidos Totais Voláteis(STV) (g L^{-1})
Inóculo	8,11	7,17
Lodo ao final da operação	3,70	2,86

Tabela 5.4: Sólidos suspensos efluente do reator EGSB escala piloto

Etapa	Sólidos Suspensos Totais (SST) (g L ⁻¹)	Sólidos Suspensos Voláteis (SSV) (g L ⁻¹)
II	0,036 ± 0,014	0,011 ± 0,001
III	0,071 ± 0,058	0,043 ± 0,013
IV	0,043 ± 0,041	0,020 ± 0,010

5.2.3 Remoção de Matéria Orgânica

A remoção da matéria orgânica foi estimada por método indireto, que calcula a demanda química de oxigênio (DQO). A partir da relação entre este parâmetro e TDH ou a concentração de sólidos totais no inóculo, obtêm-se a carga orgânica aplicada por volume de reator (Carga Orgânica Volumétrica - COV) e a carga orgânica aplicada por concentração de biomassa (Carga Orgânica Específica - COE), respectivamente. Parâmetros, por meio dos quais, tem-se a análise das variações absolutas na distribuição da matéria orgânica.

Na água residuária de lavanderia comercial, os surfactantes são as principais fontes de carbono, porém não são as únicas. A matéria orgânica que a compõe é de degradação mais complexa que aquela do esgoto doméstico. A eficiência de remoção de DQO passou de 73 ± 23% (317 ± 183 mgDQO_{afluente} L⁻¹ e 66 ± 39 mgDQO_{efluente} L⁻¹) na etapa de adaptação para 61 ± 25% (426 ± 242 mgDQO_{afluente} L⁻¹ e 168 ± 239 mgDQO_{efluente} L⁻¹), 50 ± 15% (380 ± 138 mgDQO_{afluente} L⁻¹ e 181 ± 82 mgDQO_{efluente} L⁻¹) e 44 ± 15% (379 ± 133 mgDQO_{afluente} L⁻¹ e 238 ± 94 mgDQO_{efluente} L⁻¹) nas etapas II, III e IV, respectivamente. Esta redução pode estar relacionada, tanto ao fato do aumento da fração de matéria orgânica não facilmente degradável nas etapas seguintes (aumento da concentração de água residuária de lavanderia comercial), quanto ao aumento da concentração de LAS que é tóxico aos microrganismos (Figura 5.6).

Figura 5.6: Boxplot das eficiências de remoção de matéria orgânica nas diferentes etapas de operação

Delforno et al. (2014) utilizaram co-substratos de fácil degradação (extrato de levedura, metanol e etanol) na remoção de LAS de água residuária de lavanderia comercial. Os autores obtiveram eficiência de remoção de $76 \pm 18\%$ para $813 \pm 75 \text{ mgL}^{-1}$ de $\text{DQO}_{\text{afluente}}$. Neste estudo, eficiência semelhante foi obtida na etapa de adaptação ($73 \pm 23\%$ de remoção para $317 \pm 183 \text{ mg L}^{-1}$ de DQO afluente). Quando os autores utilizaram apenas água residuária de lavanderia comercial diluída em água para abastecimento, observaram diminuição da eficiência de remoção para $61 \pm 15\%$ para $221 \pm 81 \text{ mgDQO L}^{-1}$ afluente (Delforno et al., 2015). Faria (2015) observou em alimentação preparada com água residuária de lavanderia comercial diluída em esgoto doméstico eficiência de remoção de matéria orgânica de $65 \pm 10 \%$ para $324 \pm 47 \text{ mgL}^{-1}$ de DQO afluente. Neste estudo, com reator EGSB escala piloto, observou-se eficiência de remoção de matéria orgânica de $61 \pm 25\%$ para $426 \pm 242 \text{ mgDQO L}^{-1}$ afluente, para a segunda etapa de operação com $5 \pm 4 \text{ mgLAS L}^{-1}$. Delforno et al. (2014), Delforno et al. (2015) e Faria (2015) operaram reator EGSB em escala de bancada e com $10\text{-}20 \text{ mg L}^{-1}$ de LAS afluente.

Por meio do teste ANOVA seguido de Tukey ($p < 0,05$) verificou-se que a eficiência de remoção na Etapa IV foi estatisticamente diferente das outras etapas. Desta forma, quando comparada as concentrações afluente de $4,5 \pm 3,8 \text{ mgLAS L}^{-1}$ (Etapa II) e $18,8 \pm 10,2 \text{ mg L}^{-1}$ (Etapa III), apenas para concentração afluente de $36,1 \pm 19,5 \text{ mgLAS L}^{-1}$ (Etapa IV) a eficiência de remoção de matéria orgânica foi afetada. É

importante ressaltar que em trabalhos anteriores, inclusive com EGSB, foi observado que a remoção de DQO não foi afetada pela adição do surfactante aniônico na alimentação, mas sim pelo aumento de sua concentração (De oliveira et al., 2009; De oliveira et al., 2010; Duarte et al., 2010; Delforno et al., 2012).

Kawai et al. (2016) relataram que a eficiência da degradação anaeróbia de matéria orgânica de água residuária recalcitrante pode ser alterada, mudando a degradabilidade do substrato. Em relação ao percolado de aterro sanitário, observou-se que a melhor proporção foi de 33% de lixiviado ($3.058 \text{ mgDQO L}^{-1}$) diluído em água residuária sintética ($2.000 \text{ mgDQO L}^{-1}$). Por exemplo, para DQO total afluyente de $2.705 \text{ mgDQO L}^{-1}$, sendo cerca de 890 mgDQO L^{-1} referente a matéria orgânica de difícil degradação. Neste estudo, a melhor proporção encontrada foi de 20% de água residuária de lavanderia comercial (745 mgDQO L^{-1}) diluída em esgoto doméstico (317 mgDQO L^{-1}), ou seja, para DQO total afluyente de aproximadamente de 400 mg L^{-1} , considerou-se 80 mgDQO L^{-1} referente a matéria orgânica de difícil degradação.

Quanto aos parâmetros operacionais do reator, Metcalf e Eddy, (2015) recomendam para digestão anaeróbia de esgoto sanitário COV de $0,5 \text{ kgDQO m}^3 \text{ d}^{-1}$. Desta forma, a COV aplicada no reator EGSB escala piloto deste estudo foi de $0,2 \pm 0,1$; $0,3 \pm 0,1$; $0,2 \pm 0,1$ e $0,2 \pm 0,1 \text{ kgDQO m}^3 \text{ d}^{-1}$, nas etapas I, II, III e IV, respectivamente (Tabela 5.5). Tais valores foram menores em relação aquele sugerido pelos autores mencionados anteriormente. No entanto, Metcalf e Eddy, (2015) recomendam para digestão anaeróbia de esgoto sanitário, COE de 10 a $50 \text{ mgDQO gSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$, estando assim, as condições impostas ao reator EGSB escala piloto, dentro deste parâmetro em todas as suas etapas de operação (27 ± 16 , 37 ± 21 , 33 ± 12 , $34 \pm 9 \text{ mgDQO gSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ nas etapas I, II, III e IV, respectivamente) (Tabela 5.5). Desta forma, pode-se afirmar que apesar da concentração de matéria orgânica relativamente baixa quando comparada a adição de substratos sintéticos, a quantidade fornecida em termos de carga orgânica para os microrganismo foi suficiente para sua manutenção e crescimento.

Tabela 5.5: Concentração de matéria orgânica nas diferentes etapas de operação do EGSB

Etapa	Afluente (mg/L)	Efluente (mg/L)	Remoção (%)	Carga Orgânica Específica (mgDQO gSV ⁻¹ d ⁻¹)	Carga Orgânica Volumétrica (kgDQO m ³ d ⁻¹)
I	317 ± 183	66 ± 39	73 ± 23	27 ± 16	0,2 ± 0,1
II	426 ± 242	168 ± 246	61 ± 25	37 ± 21	0,3 ± 0,1
III	380 ± 138	181 ± 82	50 ± 15	33 ± 12	0,2 ± 0,1
IV	379 ± 133	238 ± 94	44 ± 15	34 ± 9	0,2 ± 0,1

A variação temporal da remoção de matéria orgânica está apresentada na Figura 5.7. Observou-se que na maioria dos dias a DQO efluente não ultrapassou 200 mg L⁻¹ e sua variação ao longo do tempo foi muito elevada, por se tratar de água residuária real, como já reportado por Tolksdorf e Cornel (2017).

Figura 5.7: Variação temporal da concentração de DQO afluente e efluente ao reator EGSB escala piloto

5.2.4 Sulfetogênese

No tratamento anaeróbio de resíduos orgânicos, a presença do sulfato provoca uma série de alterações em reatores biológicos, uma vez que é estabelecida competição pelo mesmo substrato por parte de bactérias redutoras de sulfato e arqueias metanogênicas, dando origem a dois produtos finais, sulfeto e metano (Zhou e Xing, 2015). Além da inibição por competição pelo substrato, o sulfeto também é tóxico aos microrganismos metanogênicos (Kaksonen et al., 2004).

É possível inferir que para maiores concentrações de LAS afluente, as concentrações de sulfeto também foram maiores; ou seja, $8 \pm 2 \text{ mg L}^{-1}$, $29 \pm 12 \text{ mg L}^{-1}$ e $31 \pm 5 \text{ mg L}^{-1}$ de sulfeto efluente para $4,5 \pm 3,8 \text{ mg L}^{-1}$, $18,8 \pm 10,2 \text{ mg L}^{-1}$ e $36,1 \pm 19,5 \text{ mg L}^{-1}$ de LAS afluente, respectivamente (Tabela 5.6 e Figura 5.8). Enquanto a média de sulfato afluente foi de $13 \pm 6 \text{ mg L}^{-1}$, $134 \pm 52 \text{ mg L}^{-1}$ e $40 \pm 10 \text{ mg L}^{-1}$ nas etapas II, III e IV, respectivamente.

Delforno et al. (2014) verificaram para reator EGSB em escala de bancada alimentado somente com água residuária de lavanderia comercial diluída em água de abastecimento a mesma influência da carga de LAS aplicada na produção de sulfeto. Os autores obtiveram $1,7 \pm 2,5 \text{ mg L}^{-1}$ e $22,0 \pm 28,8 \text{ mg L}^{-1}$ de sulfeto para $12,0 \pm 3,0 \text{ mg L}^{-1}$ e $28,8 \pm 6,4 \text{ mg L}^{-1}$ de LAS afluente, respectivamente.

Tabela 5.6 - Sulfeto efluente do reator EGSB escala piloto

Etapa	LAS afluente (mg L^{-1})	Sulfato afluente (mg L^{-1})	Sulfeto Efluente (mg L^{-1})
II	$4,5 \pm 3,8$	13 ± 6	8 ± 2
III	$18,8 \pm 10,2$	134 ± 52	29 ± 12
IV	$36,1 \pm 19,5$	40 ± 10	31 ± 5

Figura 5.8: Boxplot das concentrações de sulfeto efluente ao reator EGSB escala piloto

A rota metabólica das bactérias redutoras de sulfato (BRS) pode ser categorizada em duas divisões: aqueles microrganismos que realizam a oxidação incompleta da matéria orgânica a acetato; e aqueles que oxidam os compostos orgânicos a CO_2 diretamente. Os AOV como ácido valérico, ácido butírico e ácido

propionico podem ser consumidos, tanto pelas que realizam oxidação completa, como incompleta, por diferentes rotas metabólicas, como por exemplo, a β -oxidação. O ácido acético gerado, também pode ser degradado pelos dois tipos de BRS, como por exemplo, pela rota Acetyl-CoA.

É importante ressaltar que a formação de ácido acético é uma característica intrínseca à condição de redução de sulfato ou sulfeto devido a coexistência de BRS que oxidam completa e incompletamente os AOV. Porém, dos 40 gêneros de BRS conhecidos, apenas 55% são capazes de metabolizar ácido acético. Isto faz com que a taxa de consumo de ácido acético pelas BRS seja menor que a sua taxa de produção, e consequentemente, a sua degradação se torna a etapa limitante no processo sulfetogênico (Hao et al., 2016). As médias de concentração de ácido acético foram de $19,6 \pm 12,6 \text{ mg L}^{-1}$ e $16,3 \pm 7,5 \text{ mg L}^{-1}$ no afluente e efluente do reator, respectivamente. A variação temporal da concentração de sulfeto está ilustrada na Figura 5.9. Valores acima de 45 mg L^{-1} só foram obtidos do início até o meio da Etapa III (entre o 150º e 250º dias de operação), provavelmente, devido a limitações metabólicas como a descrita acima.

Figura 5.9: Variação temporal da concentração de sulfeto efluente ao reator EGSB escala piloto

5.2.5 Remoção de LAS

Neste estudo, com $4,5 \pm 3,8 \text{ mg L}^{-1}$, $18,8 \pm 10,2 \text{ mg L}^{-1}$ e $36,1 \pm 19,5 \text{ mg L}^{-1}$ de LAS afluyente verificou-se eficiência de remoção do surfactante de $71 \pm 27\%$, $55 \pm 29\%$ e $32 \pm 17\%$ respectivamente, para TDH de $46 \pm 7 \text{ h}$, $42 \pm 4 \text{ h}$ e $41 \pm 2 \text{ h}$ (Tabela 5.7 e Figura 5.10). Por meio do teste ANOVA seguido de Tukey ($p < 0,05$) verificou-se que a eficiência de remoção da Etapa IV foi estatisticamente diferente das outras etapas. Ou seja, os aumentos da concentração de LAS e da porcentagem de água de lavanderia comercial na alimentação do reator influenciaram significativamente na eficiência de remoção do surfactante na Etapa IV. Elevada remoção de LAS foi observada no início da operação, como também relatado em outros estudos (Delforno et al., 2012; Delforno et al., 2014). Este processo ocorre devido à adsorção de LAS no lodo granular e obtém-se estabilidade de remoção, após a saturação do lodo (esgotamento dos sítios de adsorção) (Okada et al., 2013).

Tabela 5.7 - LAS afluyente e efluente do reator EGSB escala piloto

Etapa	LAS Afluyente (mg L^{-1})	LAS Efluente (mg L^{-1})	Remoção de LAS (%)	Carga Volumétrica ($\text{mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$)	Remoção Volumétrica ($\text{mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$)	Carga Específica ($\text{mg gSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$)	Remoção Específica ($\text{mg gSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$)
II	$4,5 \pm 3,8$	$0,8 \pm 0,6$	71 ± 27	$0,03 \pm 0,03$	$0,01 \pm 0,01$	$0,28 \pm 0,24$	$0,17 \pm 0,05$
III	$18,8 \pm 10,2$	$8,8 \pm 7,1$	55 ± 29	$0,52 \pm 0,30$	$0,11 \pm 0,09$	$1,57 \pm 0,80$	$1,27 \pm 0,83$
IV	$36,1 \pm 19,5$	$27,5 \pm 18,3$	32 ± 17	$0,84 \pm 0,29$	$0,09 \pm 0,04$	$2,56 \pm 0,9$	$0,74 \pm 0,36$

Figura 5.10: Boxplot das eficiências de remoção do LAS do reator EGSB escala piloto

Delforno et al. (2014) verificaram em reator EGSB em TDH de 40h e 20 mg L⁻¹ de LAS afluente, alimentado com água residuária de lavanderia comercial com e sem co-substratos, remoção de LAS de 90% e 59%, respectivamente. Enquanto, Faria (2015) observou eficiência média de remoção de 55% de LAS para reator EGSB em TDH de 36h, alimentado com água residuária de lavanderia comercial diluída em esgoto doméstico com 20 mg L⁻¹ de LAS afluente.

Braga et al. (2015) avaliaram RALF alimentado com água residuária de lavanderia comercial e co-substratos (sacarose, extrato de levedura e solução de sais). Os autores obtiveram remoção de 53 ± 16% de LAS para concentrações afluente de 24 mgLAS L⁻¹ e 691 ± 103 mgDQO L⁻¹. Na etapa seguinte, com 28 mg L⁻¹ de LAS e 666 ± 161 mg L⁻¹ de DQO, os autores verificaram remoção de 39 ± 21%. Sendo assim, obteve-se elevada remoção média, quando comparado a outras condições semelhantes, porém com fontes adicionais de carbono e em escala de bancada.

A variação temporal da concentração de LAS afluente e efluente ao reator pode ser observada na Figura 5.11. Durante toda a Etapa II as concentrações de LAS efluente foram abaixo de 5 mg L⁻¹. Nos primeiros 50 dias de operação da etapa III, e do 250º ao 300º dia de operação do reator (meio da Etapa III), as concentrações de LAS efluente foram abaixo de 10 mgLAS L⁻¹. Todavia, do 300º ao 350º dia de operação do reator, instabilidade na remoção de LAS foi notada, e os valores de LAS efluente foram todos acima de 10 mg L⁻¹. Ao final da etapa III e 30 primeiros dias da Etapa IV a estabilidade de remoção retornou, porém logo foi desestabilizada novamente, com valores acima de 20mgLAS L⁻¹ efluente, nos últimos 30 dias de operação do reator. Esta instabilidade pode estar relacionada, por exemplo, ao aparecimento de outros compostos recalcitrantes, além do surfactante LAS, na água residuária real.

Figura 5.11: Variação temporal da concentração de LAS afluente e efluente do reator EGSB escala piloto

A carga específica (CE) e remoção específica de LAS representam, de forma absoluta, a concentração de LAS que está sendo aplicada e removida por grama de biomassa. A relação entre estes dois parâmetros resultou em duas curvas, ilustradas na Figura 5.12. Em ambas as curvas a CE removida foi crescente em relação a CE aplicada até a formação aproximada de um "platô". A curva superior provavelmente representa o reator funcionando em condições ótimas de operação, enquanto na curva inferior foram verificadas menores eficiências de remoção do surfactante para mesma CE aplicada. Em ambas, o "platô" se formou na CE aplicada de $2,3 \text{ mgLAS gSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$, e a CE removida correspondente foi de $1,8$ e $1,2 \text{ mgLAS gSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$, para as curvas superior e inferior, respectivamente.

Para valores de CE afluente acima de $3,0 \text{ mgLAS gSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ verificou-se desestabilização na CE removida, sendo observado valores abaixo de $1,0 \text{ mgLAS gSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ (Figura 5.12). Isso, provavelmente, ocorreu devido a limitações na cinética de degradação do surfactante. Macedo et al. (2017) reportaram que, para concentrações de até $24,2 \text{ mgLAS L}^{-1}$ afluente, a adição de etanol na alimentação não influencia a cinética de degradação anaeróbia do LAS. No entanto, para concentrações acima de $34,8 \text{ mgLAS L}^{-1}$ verificou-se o dobro da constante cinética de degradação aparente do

LAS (k_{LAS}) no ensaio em que este substrato foi adicionado, quando comparado ao ensaio que não houve adição de etanol. Montteran et al. (2017) reportaram eficiências de remoção de LAS de 56% para $43,8 \text{ mgLAS L}^{-1}$ afluente de reator fluidificado escala ampliada alimentado com água residuária de lavanderia diluída em água para abastecimento, ao adicionar etanol e álcool etoxilado (LAE) como co-substratos. Porém, após a retirada destes co-substratos da alimentação, a eficiência média de remoção foi de 19%. Ou seja, a instabilidade de degradação para concentrações afluente de surfactante acima de 35 mg L^{-1} existe e pode ser revertida com o acréscimo de substratos sintéticos e, conseqüentemente, acréscimo de custo no processo.

Figura 5.12: Relação entre a Carga Específica aplicada e a Remoção Específica de LAS

5.2.6 Estabilidade do Reator

Em relação à estabilidade temporal do reator, a variação na eficiência de remoção de matéria orgânica (14% a 94 %), foi menor que a variação na eficiência de remoção do LAS (3 a 100%). É importante ressaltar que em reatores de escala piloto, o controle dos parâmetros operacionais se torna menos preciso e sujeito a maiores

variações de carga aplicada e composição do afluente, ou seja, menor estabilidade é esperada (Sanchez et al., 2005).

As eficiências de remoção de DQO e LAS foram acima de 50% e 40%, respectivamente, durante os 150 primeiros dias de operação do reator. Em seguida a esse período, observou-se valores de remoção de DQO e LAS abaixo de 50% para concentrações de sulfeto efluente acima de 35 mg L^{-1} . Neste período, observou-se que a concentração de sulfato na água residuária de lavanderia comercial variou de 620 a 720 mg L^{-1} , valores acima da média de $535 \pm 149 \text{ mg L}^{-1}$. Além disso, altas eficiências de remoção de LAS estiveram relacionadas as altas eficiências de remoção de DQO. Porém, a diminuição na eficiência de remoção de LAS não afetou a remoção de DQO. Eficiências de remoção de LAS abaixo de 30% foram reportadas predominantemente na última etapa, mesmo mantendo-se concentração de sulfeto efluente similar a da etapa anterior (Figura 5.13).

Figura 5.13 - Variação temporal das eficiências de remoção de LAS e DQO e da concentração de sulfeto efluente

5.3 Balanço de Massa do LAS

Nos primeiros dias de operação do reator, foi notável a influência da adsorção de LAS na manta de lodo em relação aos valores observados na concentração de LAS efluente. Por conseguinte, e assim que os sítios de adsorção ficaram saturados de LAS observou-se o seu aumento no efluente. Okada et al. (2013) observaram aumento do tempo necessário para os sítios de adsorção das moléculas de LAS se esgotarem, com o aumento da concentração de sólidos totais da manta de lodo do reator. A porcentagem de LAS adsorvido chegou a aumentar de 6% para 33% com o aumento da concentração de sólidos totais de 1,3 para 16 gST L⁻¹.

Garcia et al. (2002) estudaram a adsorção de LAS em partículas de lodo proveniente de estação de tratamento de água residuária e concluíram que, a capacidade de adsorção aumenta com o aumento do comprimento da cadeia alquílica da molécula, e com a dureza da água. Souza et al. (2016) reportaram que foi crescente a remoção por adsorção das moléculas de LAS com 10 até 13 carbonos na cadeia alquílica. Segundo Okada et al. (2009) a adsorção do LAS no lodo granular se torna mais difícil quando os sítios de adsorção são saturados pelas moléculas de LAS, de acordo com a isoterma de adsorção de Freundlich.

Além da concentração de sólidos totais, a fonte de água residuária também pode influenciar na concentração de LAS adsorvido na manta de lodo. A água residuária de lavanderia comercial, por exemplo, normalmente possui EDTA em sua composição, o que dificulta a adsorção de LAS no lodo (Westall et al., 1999).

No reator EGSB foram adicionados 168,7 g de LAS durante 420 dias. A parcela relacionada à degradação biológica foi de 44% (Tabela 5.8 e Figura 5.14). É importante ressaltar que, diferentemente de outros estudos, não foi reportada a presença de biomassa no separador de fase. Apenas 1% do LAS ficou adsorvido na biomassa, inteiramente localizada na manta de lodo do reator. Faria et al. (2015) avaliaram reator EGSB em escala de bancada no tratamento de água residuária de lavanderia comercial diluída em esgoto doméstico e água para abastecimento por 240 dias e obtiveram 67% de degradação biológica.

Tabela 5.8: Balanço de massa do LAS durante a operação do reator EGSB escala piloto

Entrada (g)	Saída (g)	Remoção (%)	Adsorção (g)	Degradação (%)
168,7	92,2	45,3	1,9	44,2

Figura 5.14: Distribuição do destino final de LAS no reator EGSB escala piloto

5.4 Granulometria

A estratificação vertical da biomassa é frequentemente observada em bioreatores anaeróbios com lodo granulado (Di Felice et al., 1997). Esta estratificação é vista como uma desvantagem nos reatores granulados; e a queda do cisalhamento hidrodinâmico no topo do reator resulta em uma instabilidade na camada superior do leito de lodo, afetando a operação do reator. Desta forma, a estratificação reduz a capacidade de tratamento, devido à conglomeração de grânulos e curto-circuito hidráulico (Gjaltema et al., 1997; Schreyer e Coughlin, 1999; Pena et al., 2006; Bayoumi, 2007).

Realizou-se a análise granulométrica em perfil (P1-topo do leito de lodo ao P6-base do leito de lodo) ao final da operação do reator. Os grânulos diminuíram em relação ao diâmetro médio obtido no inóculo. O que já era esperado, pois o inóculo é proveniente de reator UASB de tratamento de efluente de suinocultura (elevada carga orgânica). Neste estudo, tanto a vazão de recirculação do reator EGSB (aumenta a força de cisalhamento), quanto a baixa concentração de substratos no esgoto doméstico desfavorecem a granulação.

As médias de diâmetro dos grânulos aumentaram e diminuíram ao longo do leito, sendo estas médias estatisticamente diferentes entre si (ANOVA). Ou seja, observou-se estratificação do tamanho dos grânulos no leito de lodo do reator. Os maiores diâmetros de grânulos (grânulos mais bem constituídos) foram observados no meio do leito de lodo, pontos P5 e P3 com grânulos de diâmetro médio de $1,5 \pm 0,7$ e $1,5 \pm 0,9$ mm, respectivamente. O menor diâmetro médio foi obtido no ponto mais próximo à entrada do afluente, ou seja, perto do distribuidor de vazão, ponto P6, com grânulos de $0,9 \pm 0,3$ mm de diâmetro médio (Tabela 5.9 e Figura 5.15).

A granulação da biomassa é um processo complexo, que pode ser afetado por diferentes fatores; tanto características físicas e químicas, relacionadas ao processo aplicado; quanto fatores biológicos, como por exemplo, a comunicação entre células (*quorum sensing*) (Liu et al., 2003). A pressão de seleção imposta ao lodo é um dos principais fatores que afetam a granulação. No caso de reatores EGSB, esta pressão geralmente depende da velocidade ascensional do líquido e da produção de gás, as quais afetam a força de cisalhamento imposta à biomassa (Liu e Tayl., 2002). Verificou-se que 86 a 93% dos grânulos do leito de lodo do reator EGSB ao final da operação possuíam diâmetro entre 0,5 a 2,5 mm. Verificou-se que após 480 dias de operação do reator, sob velocidade ascensional de 4 m h^{-1} , ocorreu redução da porcentagem de grânulos do inóculo de diâmetro entre 2,5 a 5,0 mm de 14% para 1-10% (Tabela 5.9).

Tabela 5.9: Diâmetro médio dos grânulos no leito de lodo do reator EGSB escala piloto e porcentagem das faixas de tamanho

		porcentagem das faixas de tamanho						
Amostra	Inóculo	P1	P2	P3	P4	P5	P6	
Diâmetro dos grânulos (mm)	1,9 ± 0,5	1,2 ± 0,5	1,1 ± 0,6	1,5 ± 0,9	1,0 ± 0,5	1,5 ± 0,7	0,9 ± 0,3	
Faixas de tamanho (%)	0 - 0,5	2	4	6	4	7	3	6
	0,5 - 1	15	49	56	42	68	36	72
	1 - 2,5	69	44	33	43	21	52	21
	2,5 - 5,0	14	3	5	10	3	8	1
	>5	0	0	0	2	1	1	0

Figura 5.15: Distribuição granulométrica no leito de lodo do reator EGSB escala piloto

Além disso, foi possível observar também estratificação na concentração de sólidos totais do leito de lodo, a qual foi acima de 25 g L^{-1} nos pontos P3, P4, P5 e P6. Porém, verificou-se diminuição da concentração de sólidos totais nos pontos superiores com 4,4 e $14,7 \text{ g L}^{-1}$ para P1 e P2, respectivamente. Além de diminuir em cerca de 10% a porcentagem de STV no ponto P1 em relação às outras amostras (Figura 5.16). Desta forma, mesmo sendo um reator de mistura completa, percebeu-se que o leito de lodo do reator EGSB possuía ainda camadas estratificadas.

Figura 5.16: Concentração de sólidos totais no leito de lodo do reator EGSB escala piloto

5.5 Análise Qualitativa por CG-EM

Amostras de água residuária de lavanderia comercial, esgoto doméstico e efluente do reator EGSB escala piloto foram coletadas no 170º dia de operação do reator (50º dia de operação da etapa III). Por meio da análise qualitativa por CG-EM observou-se 16 compostos. Dentre eles, todos foram detectados na água residuária de lavanderia, 8 no esgoto doméstico, e apenas 2 no efluente do reator EGSB. Quanto às características químicas: 6 compostos são classificados como ácidos graxos, e foram removidos no processo anaeróbio, com exceção do ácido palmítico; 2 compostos são classificados como alcoóis e também foram removidos. Os outros 7 compostos são aromáticos, e também foram removidos, com exceção do butil benzeno sulfonamida. Na Tabela 5.10 estão descritos os compostos detectados na análise de CG-EM, e na Figura 5.17 é possível visualizar a composição percentual dos compostos detectados nas amostras.

Sendo %A a porcentagem de área normalizada a qual indica a distribuição relativa dos compostos na amostra. Para as três amostras analisadas observou-se ácido hexadecanóico ou ácido palmítico como composto predominante (31%A na água

residuária de lavanderia, 39%A no esgoto doméstico e 70%A no efluente do reator EGSB). É um dos ácidos graxos mais comuns, e está presente no processo de produção dos surfactantes (Eriksson et al., 2003; Braga e Varesche, 2014). Este composto também foi detectado no efluente de reator RALF alimentado com água residuária de lavanderia comercial diluída em água para abastecimento, embora em menor porcentagem - 3%A (Macedo et al., 2015).

O composto butil benzenosulfonamida também foi detectado, tanto na água de lavanderia comercial, quanto no esgoto doméstico e efluente do reator, nas porcentagens de 11%A, 13%A e 30%A, respectivamente. Faz parte da composição de produtos de limpeza, e é um composto recalcitrante, o que pode ter dificultado sua degradação (Pacheco, 2006).

O diisobutil ftalato e etil hexil ftalato são dois compostos de amaciantes que foram encontrados, tanto na água de lavanderia, como no esgoto doméstico. O ftalato é um composto utilizado em ampla variedade de produtos, tais como tintas, adesivos e cosméticos (Huang et al., 2007). O etil hexil ftalato é um composto pouco degradável, tanto em água de rio (10% após uma semana), quanto em sistemas de lodos ativados (74% de remoção). Tal composto é tóxico a peixes da espécie *Gambusia affinis*, crustáceos das espécies *Palaemonetes pugio holthius*, e algas da espécie *Oedogonium sp.* (CETESB, 1992). Esse composto também foi detectado na caracterização de água residuária de lavanderia comercial de estudos anteriores (Braga e Varesche, 2014; Macedo et al., 2015; Faria, 2015).

Tabela 5.10: Compostos detectados na análise qualitativa por CG-EM

Composto	Água Residuária de Lavanderia Comercial		Esgoto Domético		Efluente do Reator EGSB escala piloto	
	%A	Qualidade	%A	Qualidade	%A	Qualidade
Análise por headspace						
Ácido Dodecanóico	0,54	99				
Ácido Hexadecanóico	31,06	90-99	38,99	99	70,12	91
Ácido Octadecanóico	0,80	98				
Ácido Palmitoleico	7,97	98	7,19	99		
Ácido Pentadecanóico	6,20	99	3,48	99		
Ácido Pentadecenóico	1,21	95				
Ácido Tetradecanóico	11,07	99	4,37	99		
Butil Benzenosulfonamida	10,89	91	12,87	91	29,88	96
Diisobutil Ftalato	5,02	83	1,43	90		
Esqualeno	3,12	91	10,43	90		
Etil Hexil Ftalato	6,73	91	18,6	91		
Etil Metil Benzeno	1,49	94-95				
Indano	0,32	87				
Não Determinado	7,57		2,64			
Nonadecanol	2,27	95				
Pentadecenol	0,97	87				
Trimetil Benzeno	2,76	93-95				
Análise por injeção direta						
Trimetil Benzeno	100,00	86			Nenhum pico foi detectado	
Não Determinado			100			

Sendo: %A - a porcentagem de área normalizada a qual indica a distribuição relativa dos compostos na amostra; Qualidade - o índice de pesquisa na base de dados que reflete a similaridade do espectro de massas obtido com os registrados nas bibliotecas utilizadas. Foram adotados índices de qualidade >70%.

Figura 5.17: Compostos detectados na análise qualitativa por CG-EM

5.6 Atividade Metanogênica Específica e Biodegradabilidade

Nesse trabalho também foi avaliada a atividade metanogênica específica (AME) e a capacidade de biodegradação de água de lavanderia comercial em co-digestão com esgoto doméstico dos microrganismos presentes no leito de lodo do reator EGSB ao final da Etapa IV. A produção de metano foi 14 vezes maior no ensaio de biodegradabilidade ($0,140 \pm 0,002 \text{ gDQO}_{\text{CH}_4} \text{ gSTV}^{-1} \text{ d}^{-1}$), quando comparada ao ensaio em que ácidos orgânicos de fácil degradação foram adicionados (AME) ($0,009 \text{ gDQO}_{\text{CH}_4} \text{ gSTV}^{-1} \text{ d}^{-1}$). Fato que pode ter ocorrido pelos microrganismos presentes no lodo já estarem mais adaptados a este substrato, do que aos ácidos orgânicos facilmente degradáveis (Tabela 5.11).

No ensaio de AME, a DQO inicial foi de 3.000 mg L^{-1} , e a final de 2.219 mg L^{-1} ; ou seja, a eficiência de remoção de matéria orgânica foi de apenas 26%, apesar dos substratos serem de fácil degradação. A concentração média de ácidos no início do ensaio foi de 938, 661 e 551 mg L^{-1} dos ácidos acético, propiônico e isobutírico, respectivamente. Enquanto, ao final da operação dos reatores, estas concentrações foram de 840, 559 e 15 mg L^{-1} , respectivamente. Provavelmente, a rota de consumo do ácido isobutírico tenha sido favorecida. Observou-se para os ácidos butírico, isovalérico e capróico os seguintes valores 406, 25 e 3 mg L^{-1} , respectivamente, no final dos ensaios em batelada, após 96 horas de operação (Tabela 5.11).

No ensaio de biodegradabilidade observou-se eficiência de remoção de DQO de 50% para 530 mg L^{-1} de matéria orgânica inicial, sendo 20% desta DQO composta por alcóois e 49% composta por ácidos orgânicos voláteis. Verificou-se também que os ácidos acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico e valérico fizeram parte da alimentação do reator (água residuária de lavanderia comercial diluída em esgoto doméstico), cujos valores observados foram de 15, 6, 18, 15, 27 e 9 mg L^{-1} , respectivamente. Além desses co-substratos verificou-se também 8 e 37 mg L^{-1} de metanol e n-butanol, respectivamente. É possível inferir que houve atividade de bactérias acetogênicas, com acúmulo de 104 mg L^{-1} ácido acético ao final do ensaio. A produção total de metano foi de $0,140 \pm 0,002 \text{ gDQO}_{\text{CH}_4} \text{ gSTV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ (Tabela 5.11).

Além disso, Garcia et al. (2005) e Garcia et al. (2006b) quantificaram a inibição de 15 e 5% na produção de biogás para concentrações de 30 mg.L^{-1} dos homólogos

C10 e C12, respectivamente. No entanto, para o homólogo C14 verificou-se aumento na produção do biogás. A necessidade de aclimatar o lodo foi reportada por Garcia et al. (2006b), cujo ensaio em batelada com 32 mg L⁻¹ de LAS inicial e inóculo proveniente da ETAR de Vilanova, Espanha inibiu a produção de metano, que só foi retomada após 20 dias.

Carvalho (2006) avaliou a atividade metanogênica específica de lodo granular de UASB de tratamento de esgoto doméstico e para relação A/M variando de 0,25 a 0,75 gDQO gSTV⁻¹ d⁻¹. Os autores obtiveram produção de metano de 0,0001 a 0,0009 gDQO_{CH₄} gSTV⁻¹ d⁻¹, utilizando a mesma mistura de ácidos orgânicos deste estudo como substrato (butírico propiônico e acético). Enquanto Garcia et al. (2008), ao realizar ensaio com biomassa imobilizada em poliuretano, em reator anaeróbio operado em bateladas sequenciais de tratamento de esgoto doméstico, obtiveram 0,0014 gDQO_{CH₄} gSTV⁻¹ d⁻¹, para relação A/M de 1,08. Desta forma, a produção de metano específica do lodo deste estudo de 0,009 gDQO_{CH₄} gSTV⁻¹ d⁻¹ foi satisfatória. Indicando a atividade das arqueias metanogênicas que apareceram na caracterização microbiana (item 5.7).

Tabela 5.11: Resultados obtidos nos ensaios de Atividade Metanogênica Específica (AME) e Biodegradabilidade

Ensaio		AME inicial	AME final	Biodegradabilidade inicial	Biodegradabilidade Final
DQO (mg L^{-1})		3000	2219	538	269
Remoção de DQO (%)		26		50	
Produção de metano ($\text{gDQOCH}_4 \text{ gSTV}^{-1} \text{ d}^{-1}$)		0,009±0,004		0,140±0,002	
Álcoois (mg L^{-1})	metanol	-	-	8	-
	n-butanol	-	-	37	-
Ácidos Orgânicos Voláteis (mg L^{-1})	acético	938	840	15	104
	propiónico	661	559	6	6
	isobutírico	551	16	18	17
	butírico	-	406	15	14
	isovalérico	-	25	27	25
	valérico	-	-	9	-
capróico		-	3	-	-
Equivalente ácido acético (mgHac L^{-1})		2808	2400	248	211
Equivalente DQO ($\text{mgDQOalcoóis L}^{-1}$)		-	-	108	-
Equivalente DQO (mgDQOAOV L^{-1})		3004	2568	265	225

5.7 Caracterização Microbiana

A caracterização microbiana do leito de lodo do reator foi realizada ao final das etapas I, II, III e IV e no meio da etapa com maior relação $\text{COE}_{\text{removida}}/\text{COE}_{\text{aplicada}}$ (etapa III*). A curva de rarefação das análises está apresentada na Figura 5.18. Percebe-se que em todas as etapas houve a formação do platô, ou seja, a amostragem realizada foi suficiente para atingir o número de espécies total da comunidade.

O resumo do número de sequências e unidades taxonômicas de operação (OTUs) e dos índices de alfa-diversidade calculados estão apresentados na Tabela 5.12. A determinação de OTUs tem o propósito de agrupar sequências em função da porcentagem de similaridade entre elas. Denomina-se Singletons, as OTUs com única sequência, que podem representar erros e portanto são removidas de certas análises (Dickie, 2010).

A dominância é um índice de diversidade que varia de 0-1, sendo 0 a presença equânime de todos os táxons e 1 a dominância de um táxon na comunidade microbiana. Em todas as etapas os valores de dominância foram abaixo de 0,2, ou seja, houve distribuição equânime nas amostras. Para as condições do meio da etapa III (etapa III*), no entanto, verificou-se o dobro do valor de dominância ($0,152 \pm 0,002$) quando comparada aos valores das amostras retiradas ao final das etapas ($0,060 \pm 0,001$; $0,069 \pm 0,001$; $0,054 \pm 0,001$; $0,072 \pm 0,001$ nas etapas I, II, III e IV, respectivamente).

O índice de Simpson varia também de 0-1 e é fortemente influenciado pela equitabilidade, ou seja, quanto maior o valor, maior a diversidade. Os valores do índice de Shannon variam de $0-\infty$ e é fortemente influenciado pela riqueza, ou seja, quanto maior o índice, maior o número de táxons na comunidade microbiana. Okada et al. (2013), Delforno et al. (2014) e Braga et al. (2015) obtiveram índice de Shannon entre 3,4 - 6,0 e consideraram alta diversidade. Neste estudo, verificou-se para o índice de Shannon entre 2,5-3,7. Para a amostra reatirada durante a etapa III também verificou-se o menor índice de Simpson e Shannon, em relação as outras amostras, corroborando com o valor da dominância.

O índice Chao1 estima a riqueza total utilizando o número de espécies representadas por apenas um indivíduo (singletons) e dois indivíduos (doubletons). A riqueza da comunidade microbiana ao final da etapa de adaptação e da etapa II foram similares, com Chao1 de 223 ± 16 e 227 ± 18 , respectivamente. Verificou-se para a Etapa III diminuição da riqueza, com o índice de Chao1 de 155 ± 7 , e aumento ao final da Etapa III e IV, cujos índices foram de 302 ± 16 e 307 ± 20 , respectivamente. Ou seja, nos últimos dias de operação do reator, a riqueza chegou a ser maior quando comparada às etapas iniciais.

Tabela 5.12: Índices de alfa-diversidade da caracterização microbiana do leito de lodo do reator EGSB

Etapa	I	II	III*	III	IV
Nº de sequências	98621	98621	98621	98621	98621
OTUs	220	214	154	294	294
Dominância	0,060±0,001	0,069±0,001	0,152±0,002	0,054±0,001	0,072±0,001
Simpson	0,940±0,001	0,931±0,001	0,848±0,002	0,947±0,001	0,928±0,001
Shannon	3,40±0,01	3,27±0,01	2,47±0,01	3,66±0,01	3,44±0,01
Chao1	223±16	227±18	155±7	302±16	307±20
Uniformidade	0,137±0,002	0,123±0,003	0,077±0,001	0,132±0,002	0,106±0,002
Equitabilidade	0,631±0,003	0,610±0,003	0,491±0,003	0,644±0,002	0,606±0,003
Singletons	13	20	5	19	25
Cobertura	99,99%	99,98%	99,99%	99,98%	99,97%
OTUs sem singletons	207	194	149	275	269

Figura 5.18: Curva de rarefação da caracterização microbiana do leito de lodo do reator EGSB escala piloto.

Aplicou-se o índice de similaridade de Bray-curtis (Figura 5.19) e observou-se maior similaridade para as etapas mais próximas, sendo a maior delas entre o final das etapas III e IV (82%), seguido do final da adaptação comparado ao final da etapa II (71%). Porém, verificou-se redução da similaridade para menos de 50% ao comparar a etapa III* com as demais, e 45 % ao comparar as etapas I e II com todas as seguintes.

Ao relacionar a similaridade de Bray-curtis com os índices alfa-diversidade encontrados, percebeu-se que na Etapa III* houve alguma mudança na comunidade microbiana, com diminuição da riqueza e diversidade, e menor similaridade em relação as outras amostras. A diversidade e riqueza foram então retomadas ao final da

etapa III e IV, que são também similares entre si, porém diferentes das etapas iniciais. Este processo de aclimação dos microrganismos aos compostos recalcitrantes foi também reportado por Kawai et al. (2016).

Figura 5.19: Índice de similaridade de Bray-curtis aplicado as etapas de operação do reator EGSB

A partir do diagrama de Venn (Figura 5.20) é possível observar que apenas 20, 6, 2, 26 e 24 das OTUs identificadas no leito de lodo do reator EGSB pertenciam exclusivamente às etapas I, II, III*, III e IV. Verificou-se para as Etapas I e II 19 OTUs em comum. Para as Etapas III e IV observou-se 63 OTUs em comum. A Etapa III* não possui nenhuma OTU exclusivamente comum com a Etapa II e apenas 2 OTUs exclusivamente comuns com a Etapa III, o que corrobora com os valores de Bray-Curtis encontrados.

Figura 5.20: Diagrama de Venn da caracterização microbiana das etapas de operação do reator EGSB.

Os gêneros do Domínio Bacteria de abundância relativa acima de 1% em pelo menos uma das etapas estão listados na Tabela 5.13. Estão descritos também os possíveis compostos usados por esses gêneros, de acordo com a literatura. Assim como, a sua identificação em outras configurações de reatores usados na degradação anaeróbia de LAS (Okada et al., 2013; Braga et al., 2015; Delforno et al., 2015; Macedo et al., 2015; Motteran et al., 2017; Andrade et al., 2017; Granatto 2017). Dentre os trinta gêneros descritos, doze estão relacionados com a degradação de LAS e/ou compostos aromáticos, cinco realizam acidogênese, quatro estão relacionados com a redução de sulfato, dois utilizam hidrocarbonetos de cadeia longa como substrato, dois degradam aminoácidos, um está relacionado com a oxidação da amônia a nitrito e nitrato, enquanto outro deles relacionado com a redução de nitrato a nitrogênio (N₂). Ainda, foi identificada bactérias semelhantes a *Dehalococcoides*, capazes de degradar plástico (PVC).

Tabela 5.13: Possíveis compostos usados por gêneros identificados nos grânulos do leito de lodo do reator EGSB escala ampliada e comparação com a literatura.

Gênero	Possíveis compostos usados	Bibliografia	Abundância relativa na amostra (%)											
			Etapas deste estudo					Estudos de degradação anaeróbia do LAS (LPB)						
			I	II	III*	III	IV	Okada et al., 2013	Braga et al., 2015	Delforno et al., 2015	Macedo et al., 2015	Motteran et al., 2017	Andrad et al., 2017	Granatto 2017
<i>Anaerophaga</i>	Hidrocarbonetos de cadeia longa	Dengeretal.,2002; Feng et al., 2007	0,49	0,64	0,19	3,60	16,90	-	-	-	-	-	-	-
<i>Geobacillus</i>			1,70	1,33	0,01	0,17	0,11	-	-	-	-	-	-	-
<i>Azovibrio</i>			0,01	0,04	0,02	0,11	1,18	-	0,34	-	11	1,70	-	-
<i>Cetobacterium</i>			0,00	0,00	1,94	1,04	1,24	0,01	0,50	-	0,02	0,40	-	-
<i>Clostridium</i>			0,95	0,98	2,35	3,32	1,83	0,03	<1,00		0,08	0,10		5,00
<i>Comamonas</i>	Aromáticos e/ou LAS	Finegold et al., 2003; Brenner et al., 2005; Yang et al., 2014; Feng et al., 2017	1,33	2,52	0,09	0,83	1,24	3,48	0,24	1,00		0,01	0,02	
<i>Desulfovibrio</i>			0,01	0,03	0,25	2,12	5,23	4,81	-	0,09	-	-	<1,00	1,00
<i>Geobacter</i>			0,63	0,69	0,46	2,39	0,77	0,05	1,23	3,9	1,44	17,10	3,50	1,82
<i>Ignavibacterium</i>			1,61	2,81	0,00	0,01	0,01	-	-	-	0,66	0,30	-	-
<i>Solirubrobacter</i>			0,32	0,69	0,79	1,95	1,43	0,01	-	-	0,01	-	-	0,73
<i>Synergistes</i>			4,60	2,25	8,82	2,99	1,08	5,52	0,07	0,06	-	6,40	-	16,00
<i>Syntrophobacter</i>			7,03	6,75	15,94	0,26	0,13	1,09	-	0,17	0,02	-	-	1,47
<i>Syntrophorhabdus</i>			4,21	2,66	0,51	1,91	0,88	-	0,46	0,77	0,33	4,30	-	1,81
<i>Syntrophus</i>			9,99	8,81	4,57	1,85	1,77	-	-	<1,00	0,17	-	-	5,00
<i>Desulfofaba</i>			1,13	4,02	0,21	0,80	0,54	-	-	-	-	-	-	2,36
<i>Desulfomicrobium</i>	Sulfato	Brenner et al., 2005	0,30	0,07	0,05	1,88	0,81	0,48	-	0,08	-	-	-	0,30
<i>Sulfuricurvum</i>			0,13	0,00	0,03	1,21	1,71	1,00	-	0,40	-	-	-	-
<i>Sulfurovum</i>			0,01	0,01	0,36	4,61	5,47	-	-	40,00	0,26	-	-	-
<i>Bellilinea</i>	Carboidratos	Yamada et al., 2007; Ibarbalz et al., 2016	15,55	17,70	15,43	14,60	15,75	0,35	<1,00	-	0,51	0,20	-	1,05
<i>Pedosphaera</i>			0,04	0,31	0,02	0,81	1,63	-	-	-	-	-	-	-
<i>Nitrosovibrio</i>	Amônia	Duan et al., 2013	0,02	0,12	0,12	3,41	6,53	-	-	-	-	-	-	-
<i>Solitalea</i>	Nitrato	Zhu et al., 2015	5,30	1,79	0,09	0,15	0,10	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacteroides</i>	Ácidos Orgânicos	Cheng et al., 2014; Gao et al., 2014; Ozgun et al., 2015	5,46	7,34	1,04	2,40	1,58	-	-	-	0,02	-	-	31,00
<i>Caldiisericum</i>			0,95	1,26	0,31	0,19	0,06	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cytophaga</i>			6,09	9,35	5,14	4,85	2,96	-	-	-	<0,01	-	-	18,00
<i>Kosmotoga</i>			3,62	1,98	0,00	0,01	0,01	1,50	-	-	-	-	-	-
<i>Leptospira</i>			0,84	0,70	0,03	4,47	1,94	-	<1,00	-	0,01	-	-	-
<i>Aminivibrio</i>	Aminoácidos	Barban, 1954; Honda et al., 2013	2,55	1,88	3,56	1,13	0,78	-	-	-	-	-	-	0,82
<i>Treponema</i>			1,64	1,09	0,08	0,79	0,80	-	-	-	0,06	-	-	-
<i>Dehalococcoides</i>	Plástico (PVC)	Duhamel et al., 2004	2,12	1,56	0,23	0,29	0,31	-	-	-	-	-	-	0,51

A abundância relativa de gêneros dos domínios Bacteria e Archaea estão ilustradas nas Figuras 5.21 e 5.22. É importante ressaltar que a categoria outros inclui os gêneros de menor abundância e aqueles não identificados. Em todas as etapas, *Belillinea* foi o mais abundante, cujo valor observado foi acima de 15%. Provavelmente, é um gênero que já estava abundante no inóculo e as condições do meio favoreceram seu metabolismo em todas as etapas. Este gênero inclui bactérias gram negativas, anaeróbias estritas e relacionadas à degradação de carboidratos (Yamada et al., 2007). Representantes semelhantes a esse gênero também foram identificados por Okada et al. (2013) na manta de lodo de reator UASB usado na remoção de LAS comercial, porém com abundância relativa de 0,02-0,35%.

Ao final das etapas I e II os gêneros com abundância relativa acima de 5% foram *Cytophaga*, *Syntrophus*, *Bacteroides* e *Syntrophobacter*. Os gêneros *Cytophaga* e *Bacteroides* estão relacionados ao tratamento anaeróbio de esgoto sanitário e ambos são anaeróbios estritos que degradam fontes simples de carbono como amido e glicose, produzindo quantidades equivalentes de ácido acético, propiônico e succínico e pequenas concentrações de ácido lático (Hatamoto et al., 2014; Ozgun et al., 2015). *Syntrophus* e *Syntrophobacter* são bactérias anaeróbias estritas frequentemente encontradas em tratamento de águas residuárias contendo LAS, e estão relacionadas a redução de sulfato (Duarte et al., 2010; Delforno et al., 2012; Delforno et al., 2014).

Ao final das etapas III e IV verificou-se abundância relativa acima de 5% para os gêneros *Anaerophaga*, *Nitrosovibrio*, *Sulfurovum* e *Desulfovibrio*. O gênero *Anaerophaga* foi identificado em sedimentos contaminados com óleo, que seriam pertencentes ao gênero *Bacteroides*. Todavia, Denger et al. (2002) atribuíram a este novo gênero. Tais bactérias foram também reportadas como produtoras de biosurfactantes em condições anaeróbias por Domingues et al. (2017).

Nitrosovibrio é conhecida por ser um dos gêneros capazes de oxidar a amônia a nitrito (Duan et al., 2013), e ainda não tinha sido encontrada nos trabalhos com surfactantes realizados no LPB. Delforno et al. (2015) verificou de 6-40% de abundância relativa do gênero *Sulfurovum* ao tratar água de lavanderia em reator EGSB escala de bancada. Neste gênero estão incluídas bactérias gram negativas, anaeróbias facultativas, as quais crescem

em condições quimiolitotróficas com enxofre elementar ou tiosulfato como doador de elétrons e nitrato ou oxigênio como receptor de elétrons (Brenner et al., 2005).

Desulfovibrio inclui bactérias anaeróbias relacionadas com a degradação de LAS, por serem capazes de degradar anéis aromáticos. São capazes também de realizar reações de oxidação incompleta de compostos orgânicos e dessulfonação utilizando ácido láctico como co-substrato (Vos et al., 2009; Hao et al., 2016). O gênero *Desulfovibrio* foi reportado com abundância relativa significativa (acima de 1%) por Okada et al. (2013), e em menores porcentagem por Delforno et al. (2015), Carosia et al. (2014), Macedo et al. (2015) e Andrade et al. (2017).

No meio da Etapa III (Etapa III*) os gêneros de maior abundância relativa foram *Cytophaga* (5%), *Syntrophus* (5%), *Synergistes* (9%), *Aminivibrio* (4%) e *Syntrophobacter* (16%). As bactérias do gênero *Synergistes* são anaeróbias e estão relacionadas a degradação do LAS, pois podem realizar a β -oxidação, reação que degrada anéis aromáticos. Este gênero foi identificado também por Duarte et al. (2006), Okada et al. (2013). O gênero *Aminivibrio* inclui bactérias que degradam aminoácidos e produzem ácido acético, ácido propiônico, CO_2 e H_2 a partir de matéria orgânica (Honda et al., 2013).

Dentre os microrganismos do Domínio Archaea, *Methanosaeta* foi a mais abundante em todas as etapas com abundância relativa de 5%, 6%, 30%, 12% e 15% nas Etapas I, II, III*, III e IV, respectivamente. Seguida do gênero *Methanolinea* com abundância relativa de 1%, 1%, 1%, 3% e 3% nas Etapas I, II, III*, III e IV, respectivamente. As arqueias semelhantes a *Methanosaeta* são responsáveis pela nucleação de grânulos de reatores anaeróbios, devido a sua boa capacidade de adesão. Além disso, são favorecidas pela presença de ácido acético, uma vez que são microrganismos acetoclásticos. *Methanolinea* inclui arqueias hidrogenotróficas, que utilizam como substrato H_2 e ácido fórmico, e requerem a presença de ácido acético e substratos semelhantes ao extrato de levedura no meio, para o seu crescimento (Imachi et al., 2008).

Figura 5.21: Abundância relativa de gêneros do domínio Bacteria em cada etapa

Figura 5.22: Abundância relativa de gêneros do domínio Archaea em cada etapa

6 CONCLUSÕES

- A adição de água residuária de lavanderia comercial na alimentação do reator não afetou significativamente a eficiência de remoção de matéria orgânica, mas sim o aumento da concentração de LAS;
- A partir do início da etapa IV, o aumento da concentração de LAS afluente já não foi suficiente para aumentar a sulfetogênese. Ou seja, aumento significativo na produção média de sulfeto só foi observado da Etapa II para a Etapa III, que foi seguida da manutenção dos níveis de sulfeto no efluente até o fim da operação;
- A eficiência de remoção do surfactante só foi estatisticamente menor na Etapa IV, quando comparada às eficiências de remoção das Etapas II e III. Para valores de carga específica de LAS aplicada acima de $3,0 \text{ mg gSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ houve desestabilização completa dos valores de carga específica removida;
- O diâmetro médio dos grânulos ao final da operação diminuiu em relação ao inóculo. Ocorreu a estratificação do leito de lodo, tanto em relação ao diâmetro médio dos grânulos, com os menores grânulos localizados próximo ao distribuidor de vazão, quanto em relação à concentração de sólidos totais voláteis, com diminuição de 10% no topo do leito de lodo;
- A produção de metano dos microrganismos do leito de lodo ao final da operação do reator foi 14 vezes maior quando utilizou-se como alimentação os substratos aos quais já estavam aclimatados (co-digestão água residuária de lavanderia comercial e esgoto doméstico), quando comparada a produção de metano utilizando ácidos orgânicos facilmente degradáveis (ácido acético, butírico e pirúvico);
- Gêneros relacionadas ao ciclo do enxofre, nitrogênio e degradação de compostos aromáticos foram identificados em todas as etapas de operação do reator. Porém, a partir dos índices de diversidade e similaridade percebeu-se que houve período de aclimação da comunidade microbiana, que foi similar entre si ao comparar o final das Etapas I com a II e III com a IV. Porém, diferem dos valores encontrados para a amostra retirada durante a operação da Etapa III.

7 SUGESTÕES

Algumas sugestões para os próximos estudos sobre degradação anaeróbia de surfactantes são:

- Realizar os ensaios de AME e biodegradabilidade ao final de cada etapa, para verificar a manutenção da atividade metanogênica do lodo e possível melhora na capacidade de biodegradação devido a seleção dos microrganismos;
- Caracterizar a água residuária de lavanderia comercial em relação às concentrações de cálcio, magnésio e EDTA (relacionados com a adsorção de LAS);
- Uma alternativa ao sequenciamento por RNAr 16s para caracterização da comunidade microbiana, é o método de qPCR em tempo real, que apesar de não identificar os microrganismos até gênero, compara-se a diversidade de grupos funcionais de cada amostra.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOUD, M. M.; KHLEIFAT, K. M.; BATARSEH, M.; TARAWNEH, K. A.; ALMUSTAFA, K.; AL-MADADHAH, M. (2007) Different optimization conditions requires for enhancing the biodegradation of linear alkylbenzosulfonate and sodium dodecyl sulfate surfactants by novel consortium of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Pantoea agglomerans*. *Enzyme and Microbial Technology* **41**, 432-439;
- ABU-HASSAN, M. A.; KIM, J. K.; METCALFE, I. S.; MANTZAVINOS, D. (2006) Kinetics of low frequency sonodegradation of linear alkylbenzene sulfonate solutions. *Chemosphere* **62**, 749-755;
- AL-JAYYOUSI O. R. (2003) Greywater reuse: towards sustainable water management. *Desalination* **156**, 181-192;
- ALPHENAAR, P. A.; VISSER, A.; LETTINGA, G. (1993) The effect of liquid upward velocity and hydraulic retention time on granulation in uasb reactors treating waste-water with a high sulfate content. *Bioresource Technology* **43**, 249-258;
- ALVARINO, T.; SUAREZ, S.; LEMA, J. M.; OMIL, F. (2014) Understanding the removal mechanisms of PPCPs and the influence of main technological parameters in anaerobic UASB and aerobic CAS reactors. *Journal of Hazardous Materials* **278**, 506-513;
- ANDRADE, M. V. F.; SAKAMOTO, I. K.; CORBI, J. J.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. (2017) Effects of hydraulic retention time, co-substrate and nitrogen source on laundry wastewater anionic surfactant degradation in fluidized bed reactors. *Bioresource Technology* **224**, 246-254;
- ANGELIDAKI, I.; MOGENSEN, A. S.; AHRING, B. K. (2000) Degradation of organic contaminants found in organic waste. *Biodegradation* **11**, 377–383;
- ANGELIDAKI, I.; TORANG, L.; WAUL, C. M.; SCHMIDT, J. E. (2004) Anaerobic bioprocessing of sewage sludge, focusing on degradation of linear alkylbenzene sulfonates (LAS). *Water Science and Technology* **49**, 115-122;
- APHA-AWWA-WPCF. Standard methods for the examination of water and wastewater (2005) 20th ed. American public health association/american water works association/water environment federation, Washington, DC, USA;
- AQUINO, S. F. D.; CHERNICHARO, C. A. D. L.; FORESTI, E.; SANTOS, M. D. L. F. D.; MONTEGGIA, L. O. (2007) Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. *Engenharia Sanitária e Ambiental* **12**, 192-201;
- ARSHAD, K.; MUJAHID, M. (2011) Biodegradation of textile materials. Dissertação (mestrado). The swedish school of textiles, Universidade de Boras;

ARSLAN-ALATON I.; ERDINC E. (2006) Effect of photochemical treatment on the biocompatibility of a commercial nonionic surfactant used in the textile industry. *Water Research* **40**, 3409–3418;

BARBAN, S. (1954) Studies on the metabolism of the *Treponemata* I.: Amino Acid Metabolism. *Journal of Bacteriology* **68**, 493;

BAYOUMI. S. (2007) Hydraulic modeling of the liquid flow pattern in a bench-scale UASB reactor. International Water Technology Conference, IWTC11, Sharm El-Sheikh, Egypt. International Water Technology Association (IWTA);

BRAGA, J. K.; VARESCHE, M. B. A. (2014) Commercial Laundry Water Characterisation. *American Journal of Analytical Chemistry* **5**, 8-16;

BRAGA, J. K.; MOTTERAN, F.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. (2015) Evaluation of bacterial community from anaerobic fluidized bed reactor for the removal of linear alkylbenzene sulfonate from laundry wastewater by 454-pyrosequence. *Ecological Engineering* **82**, 231-240;

BRENNER, D. J.; KRIEG, N. R.; STALEY, J. T. (2005) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Springer Verlag, Nova York;

BRENNER, D. J.; FARMER, J. J. (2015) *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. John Wiley and Sons Inc. in association with Bergey's Manual Trust;

CAPORASO, J. G.; KUCZYNSKI, J.; STOMBAUGH, J.; BITTINGER, K.; BUSHMAN, F. D.; COSTELLO, E. K.; FIERER, N.; PEÑA, A. G.; GOODRICH, J. K.; GORDON, J. I.; HUTTLEY, G. A.; KELLEY, S. T.; KNIGHT, D.; KOENIG, J. E.; LEY, R. E.; LOZUPONE, C. A.; MCDONALD, D.; MUEGGE, B. D.; PIRRUNG, M.; REEDER, J.; SEVINSKY, J. R.; TURNBAUGH, P. J.; WALTERS, W. A.; WIDMANN, J.; YATSUNENKO, T.; ZANEVELD, J.; KNIGHT, R. (2010) QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods* **5**, 335-336;

CAPORASO, G. J.; LAUBER, C. L.; WALTERS, W. A.; BERG-LYONS, D.; HUNTLEY, J.; FIERER, N.; OWENS, S.M.; BETLEY, J.; FRASER, L.; BAUER, M.; GORMLEY, N.; GILBERT, J. A.; SMITH, G.; KNIGHT, R. (2012) Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *The ISME Journal* **6**, 1621-1624;

CAROSIA, M. F.; OKADA D. Y.; SAKAMOTO, I. K.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. (2014) Microbial characterization and degradation of linear alkylbenzene sulfonate in an anaerobic reactor treating wastewater containing soap powder. *Bioresource Technology* **167**, 316–323;

CARVALHO, K. Q. (2006) Resposta dinâmica de reator UAS em escala piloto submetido a cargas orgânicas e hidráulicas cíclicas: modelos matemáticos e resultados experimentais. Tese (Doutorado) – PPG-SHS-EESC-USP;

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (1992) Fichas de informação sobre produtos químicos;

CHENG, L.; SHI, S.; LI, Q.; CHEN, J.; ZHANG, H.; LU, Y. (2014). Progressive degradation of crude oil n-alkanes coupled to methane production under mesophilic and thermophilic conditions. *PLoS one* **9**, e113253;

DENGER, K.; LUDWIG, W.; WARTHMAN, R.; SCHINK, B. (2002) *Anaerophaga thermohalophila* gen. nov., sp. nov., a moderately thermohalophilic, strictly anaerobic fermentative bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **52**, 173–178;

DELFORNO T. P.; OKADA, D. Y.; POLIZEL J.; SAKAMOTO, I. K.; VARESCHE, M. B. A. (2012) Microbial characterization and removal of anionic surfactant in an expanded granular sludge bed reactor. *Bioresource Technology* **107**, 103–109;

DELFORNO, T. P.; MOURA, A. G. L.; OKADA, D. Y.; VARESCHE, M. B. A. (2014) Effect of biomass adaptation to the degradation of anionic surfactants in laundry wastewater using EGSB reactors. *Bioresource Technology* **154**, 114-121;

DELFORNO, T.P.; MOURA, A.G.L.; OKADA, D.Y.; SAKAMOTO, I.K.; VARESCHE, M.B.A. (2015) Microbial diversity and the implications of sulfide levels in an anaerobic reactor used to remove an anionic surfactant from laundry wastewater. *Bioresource Technology* **192**, 37-45;

DEL NERY, V.; ALVES, I.; DAMIANOVIC, M. H. R. Z; PIRES, E. C. (2016) Performance of a high rate UASB reactor for sugarcane vinasse degradation and energy generation. XII DAAL, Cusco, Peru;

DENGE, K.; COOK, A. M. (1999) Linear alkylbenzene sulfonate (LAS) bioavailable to anaerobic bacteria as source of sulfur. *Journal of Applied Microbiology* **86**, 165–168;

DICKIE, I. A. (2010) Insidious effects of sequencing errors on perceived diversity in molecular surveys. *New Phytologist* **188**, 916–918;

DI FELICE, R.; NICOLELLA C.; ROVATTI, M. (1997) Mixing and segregation in water fluidized-bed bioreactors. *Water Research* **31**, 2392–2396;

DOMINGUES, P. M.; ALMEIDA, A.; LEAL, L. S.; GOMES, N. C.; CUNHA, A. (2017) Bacterial production of biosurfactants under microaerobic and anaerobic conditions. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* **16**, 239-272;

DROSTE, R. L. (1997) Theory and practice of water and wastewater treatment. New York, John Wiley and Sons;

DUARTE, I. C. S.; OLIVEIRA, L. L.; BUZZINI, A. P.; ADORNO, M. A. T.; VARESCHE, M. B. A. (2006) Development of a method by hplc to determine las and its application in anaerobic reactors. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **17**, 1360-1367;

DUARTE, I. C. S.; OLIVEIRA, L. L.; SAAVEDRA, N. K.; FANTINATTI-GARBOGGINI, F.; MENEZES, C. B. A.; OLIVEIRA, V. M.; VARESCHE, M. B. A. (2008) Treatment of linear alkylbenzene sulfonate in a horizontal anaerobic immobilized biomass reactor. *Bioresource Technology* **101**, 606-612;

DUARTE, I. C. S.; OLIVEIRA, L. L.; MAYOR, M. S.; OKADA, D. Y.; VARESCHE, M. B. A. (2010) Degradation of detergent (linear alkylbenzene sulfonate) in an anaerobic stirred sequencing-batch reactor containing granular biomass. *International Biodeterioration and Biodegradation* **64**, 129-134;

DUAN, L.; SONG, Y.; XIA, S.; HERMANOWICZ, S. W. (2013) Characterization of nitrifying microbial community in a submerged membrane bioreactor at short solids retention times. *Bioresource Technology* **149**, 200-207;

DUHAMEL, M.; MO, K.; EDWARDS, E. A. (2004). Characterization of a highly enriched *Dehalococcoides*-containing culture that grows on vinyl chloride and trichloroethene. *Applied and Environmental Microbiology* **70**, 5538-5545;

ERIKSSON, E.; AUFFARTH, K.; EILERSEN, A. M.; HENZE, M.; LEDIN, A. (2003) Household chemicals and personal care products as sources for xenobiotic organic compounds in grey wastewater. *Water Sa* **29**, 135-146;

ESPOSITO, G.; FRUNZO, L.; LIOTTA, 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* **5**, 1-8;

FARIA, C. V. (2015) Remoção e Degradação de Alquilbenzeno Linear Sulfonado de Água Residuária de Lavanderia Diluída em Esgoto doméstico. Dissertação (Mestrado) – PPG-SHS-EESC-USP;

FENG, L.; WANG, W.; CHENG, J.; REN, Y.; ZHAO, G.; GAO, C.; LIU, R. (2007) Genome and proteome of long-chain alkane degrading *Geobacillus thermodenitrificans* NG80-2 isolated from a deep-subsurface oil reservoir. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **104**, 5602-5607;

FENG, H.; WANG, Y.; ZHANG, X.; SHEN, D.; LI, N.; CHEN, W.; ZHOU, Y. (2017) Degradation of p-fluoronitrobenzene in biological and bioelectrochemical systems: Differences in kinetics, pathways, and microbial community evolutions. *Chemical Engineering Journal* **314**, 232-239;

FERGUSON, R. M. W.; COULON, F.; VILLA, R. (2016) Organic loading rate: A promising microbial management tool in anaerobic digestion. *Water Research* **100**, 348-356;

FINEGOLD, S. M.; VAISANEN, M. L.; MOLITORIS, D. R.; TOMZYNSKI, T. J.; SONG, Y.; LIU, C.; COLLINS, M. D.; LAWSON, P. A. (2003) *Cetobacterium somerae* sp. nov. from human feces and emended description of the genus *Cetobacterium*. *Systematic and Applied Microbiology* **26**, 177-181;

GAO, D.; HUANG, X.; TAO Y.; CONG, Y.; WANG, X. (2015) Sewage treatment by an UAFB-EGSB biosystem with energy recovery and autotrophic nitrogen removal under different temperatures. *Bioresource Technology* **181**, 26-31;

GARCIA, M. T.; CAMPOS, E.; DALMAU, M.; RIBOSA, I.; SANCHEZ-LEAL, J. (2002) Structure-activity relationships for association of linear alkylbenzene sulfonates with activated sludge. *Chemosphere* **49**, 279-286;

GARCIA, M. T.; CAMPOS, E.; RIBOSA, I.; LATORRE, A.; SANCHEZ-LEAL, J. (2005) Anaerobic digestion of linear alkyl benzene sulfonates: Biodegradation kinetics and metabolite analysis. *Chemosphere* **60**, 1636-1643;

GARCIA, M. T.; CAMPOS, E.; SANCHEZ-LEAL, J.; RIBOSA, I. (2006a) Effect of linear alkylbenzenesulphonates (LAS) on the anaerobic digestion of sewage sludge. *Water Research* **40**, 2958-2964;

GARCIA, M. T.; CAMPOS, E.; RIBOSA, I.; DALMAU, M.; ILLAN, P.; SANCHEZ-LEAL, J. (2006b) Inhibition of biogas production by alkylbenzene sulfonates (LAS) in a screening test for anaerobic biodegradability. *Biodegradation* **17**, 39-46;

GARCIA, M. L.; LAPA, K. R.; FORESTI, E.; ZAIAT, M. (2008) Effects of bed materials on the performance of an anaerobic sequencing batch biofilm reactor treating domestic sewage. *Journal of Environmental Management* **88**, 1471-1477;

GARCÍA-MORALES, J. L.; NEBOT, E.; ROMERO, L. I.; SALES, D. (2001) Comparison between acidogenic and methanogenic inhibition caused by linear alkylbenzene-sulfonate (LAS). *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly* **15**, 13-20;

GJALTEMA, A.; VINKE, J. L.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; HEIJNEN, J. J. (1997) Abrasion of suspended biofilm pellets in airlift reactors: Importance of shape, structure, and particle concentrations. *Biotechnology and Bioengineering* **53**, 88-99;

GOMEZ V.; FERRERES L.; POCURULL E.; BORRULL F. (2011) Determination of nonionic and anionic surfactants in environmental water matrices. *Talanta* **84**, 859-866;

GRANATTO, C. F. (2017) Remoção de surfactante aniônico alquilbenzeno linear sulfonado em esgoto sanitário em reator anaeróbico de leito granular expandido em escala piloto. Dissertação (Mestrado) – PPG-SHS-EESC-USP;

GRAY, S. R.; BECKER, N. S. C. (2002) Contaminant flows in urban residential water systems. *Urban Water* **4**, 331-346;

HATAMOTO, M.; KANESHIGE, M.; NAKAMURA, A.; YAMAGUCHI, T. (2014) *Bacteroides luti* sp. nov., an anaerobic, cellulolytic and xylanolytic bacterium isolated from methanogenic sludge. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **64**, 1770-1774;

HAMMER, O.; HARPER, D. A. T.; RYAN P. D. (2001) Past Paleontological Statistics Software. Package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*;

HAMPEL, M.; MAUFFRET, A.; PAZDRO, K.; BLASCO, J. (2012) Anionic surfactant linear alkylbenzene sulfonates (LAS) in sediments from the Gulf of Gdansk (southern Baltic Sea, Poland) and its environmental implications. *Environmental Monitoring and Assessment* **184**, 6013-6023;

HAO, T. W.; LUO, J. H.; WEI, L.; MACKEY, H. R.; CHI, K.; CHEN, G. H. (2016) Example study for granular bioreactor stratification: Three-dimensional evaluation of a sulfate-reducing granular bioreactor. *Scientific Reports* **6**, 31718;

HONDA, T.; FUJITA, T.; TONOUCHI, A. (2013) *Aminivibrio pyruvatiphilus* gen. nov., sp. nov., an anaerobic, amino-acid-degrading bacterium from soil of a Japanese rice field. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **63**, 3679-3686;

HORVÁTH, I. C. (1994) *Hydraulics in water and wastewater treatment technology*. John Wiley and Sons;

HUANG X.; WU T.; LI Y.; SUN D.; ZHANG G.; WANG Y.; WANG G.; ZHANG M. (2012) Removal of petroleum sulfonate from aqueous solutions using freshly generated magnesium hydroxide. *Journal of Hazardous Materials* **219**, 82–88;

HUANG, J.; WANG, X.; JIN, Q.; LIU, Y.; WANG, Y. (2007) Removal of phenol from aqueous solution by adsorption onto OTMAC-modified attapulgite. *Journal of Environmental Management* **84**, 229-236;

Ibarbalz, F. M.; Orellana; E.; Figuerola, E. L.; Erijman, L. (2016) Shotgun Metagenomic Profiles Have a High Capacity To Discriminate Samples of Activated Sludge According to Wastewater Type. *Applied and Environmental Microbiology* **82**, 5186-5196;

IMACHI, H., SAKAI, S., SEKIGUCHI, Y., HANADA, S., KAMAGATA, Y., OHASHI, A., HARADA, H. (2008) *Methanolinea tarda* gen. nov., sp. nov., a methane-producing archaeon isolated from a methanogenic digester sludge. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **58**, 294-301;

JARDAK, K.; DROGUI, P.; DAGHRIR, R. (2016) Surfactants in aquatic and terrestrial environment: occurrence, behavior, and treatment processes. *Environmental Science and Pollution Research* **23**, 3195-3216;

JIANG, Y.; BANKS, C.; ZHANG Y.; HEAVEN S.; LONGHURST P. (2017) Quantifying the percentage of methane formation via acetoclastic and syntrophic acetate oxidation pathways in anaerobic digesters. *Waste Management* (em impressão);

JIN, L.; WANG, X.; GU, Z.; ZHOU, D.; XIE, S. (2006) Biodegradation of Lubricating Oil in Wastewater with *Zoogloea* sp. 11Project supported by the Natural Science and Technology Program of Lanzhou University (Nos. 582402 and 582403). *Pedosphere* **16**, 540-544;

KAKSONEN, A. H.; FRANZMANN, P. D.; PUHAKKA, J. A. (2004) Effects of hydraulic retention time and sulfide toxicity on ethanol and acetate oxidation in sulfate-reducing-metal-precipitating fluidized-bed reactor. *Biotechnology and Bioengineering* **86**, 332–343;

KALOGO, Y.; VERSTRAETE, W. (1999) Development of anaerobic sludge bed (ASB) reactor technologies for domestic wastewater treatment: motives and perspectives. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **15**, 523-534;

KATO, M. T.; FIELD, J. A.; VERSTEEG, P.; LETTINGA, G. (1994) Feasibility of expanded granular sludge bed reactors for the anaerobic treatment of low-strength soluble wastewaters. *Biotechnology and Bioengineering* **44**, 469-479;

KAWAI, M.; NAGAO, N.; KAWASAKI, N.; IMAI, A.; TODA, T. (2016) Improvement of COD removal by controlling the substrate degradability during the anaerobic digestion of recalcitrant wastewater. *Journal of Environmental Management* **181**, 838-846;

KRIEG N. R.; LUDWIG W.; EUZÉBY J.; WHITMAN W. B.; STALEY J. T.; BROWN D. R.; HEDLUND B. P.; PASTER B. J.; WARD N. L (2010) The Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (Mollicutes), Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobacteria, Dictyoglomi, Gemmatimonadetes, Lentisphaerae, Verrucomicrobia, Chlamydiae, and Planctomycetes. Springer, Nova York;

KRUEGER C. J.; RADAKOVICH, K. M.; SAWYER, T. E.; BARBER, L. B.; SMITH, R. L.; FIELD, J. A. (1998) Fate and transport of a linear alkylbenzenesulfonate in a sewage-contaminated aquifer: A comparison of natural-gradient pulsed tracer tests, *Environmental Science and Technology* **32**, 3954-3961;

LARA-MARTIN, P. A.; GOMEZ-PARRA, A.; SANZ, J. L.; GONZALEZ-MAZO, E. (2010) Anaerobic Degradation Pathway of Linear Alkylbenzene Sulfonates (LAS) in Sulfate-Reducing Marine Sediments. *Environmental Science and Technology* **44**, 1670–1676;

LAZARO, C. Z.; HIRASAWA J. S.; VARESCHE M. B. A.; ADORNO M. A. T. (2008) Development of an hplc method for the analysis of eleven short chain organic acids in bioproduction of hydrogen. In: XII COLACRO. Florianópolis, Brasil;

LEON, V. M.; LOPEZ, C.; LARA-MARTIN, P. A.; GONZALEZ-MAZO, E.; VARÓ P. (2006) Removal of linear alkylbenzene sulfonates and their degradation intermediates at low temperatures during activated sludge treatment. *Chemosphere* **64**, 1157-1166;

LIU, Y.; TAY, J. (2002) The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge. *Water Research* **36**, 1653–1665;

LIU, Y.; LOU XU, H.; YANG, S. F.; TAY, J. H. (2003) Mechanisms and models for anaerobic granulation in upflow anaerobic sludge blanket reactor. *Water Research* **37**, 661–673;

MACEDO, T. Z.; OKADA, D. Y.; DELFORNO, T. P.; BRAGA, J. K.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. (2015) The comparative advantages of ethanol and sucrose as co-substrates in the degradation of an anionic surfactant: microbial community selection, *Bioprocess and Biosystems Engineering* **38**, 1835–1844;

MACEDO, T. Z.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. (2017) Avaliação da influência do etanol nos parâmetros cinéticos de degradação do las e dco em água residuária de lavanderia comercial combinada com esgoto doméstico. Anais do I Seminário Temático FAPESP: "Aplicação do conceito de biorrefinaria a estações de tratamento biológico de águas residuárias: o controle da poluição ambiental aliado à recuperação de matéria e energia";

MARTINS, T. H. (2015) Apostila sobre o uso de teste manométrico para determinação de atividade metanogênica específica em lodos biológicos. Rotina de operação e análise de biodegradação manométrica. v. 02;

MENDONÇA, N. M.; SIMAN, R. R.; NICIURA, C. L.; CAMPOS, J. R. (2005) Aplicabilidade de reator anaeróbio de leito expandido em escala plena no pré-tratamento de esgoto sanitário: Aspectos de desempenho, produção de lodo e efluente. In: 23º Congresso de Engenharia Sanitária e Ambiental. ABES. Campo Grande, Brasil;

METCALF, L.; EDDY, H. P. (2015) Tratamento de efluentes e recuperação de recursos. McGraw Hill Brasil;

MOTTERAN, F.; BRAGA, J. K.; SAKAMOTO, I. K.; VARESCHE, M. B. A. (2014) Methanogenic potential of an anaerobic sludge in the presence of anionic and nonionic surfactants. *International Biodeterioration and Biodegradation* **96**, 198-204;

MOTTERAN, F.; NADAI, B. M.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. (2017) Ampliação da escala de reator anaeróbio de leito fluidificado para remoção de surfactantes aniônico e não ionico em água residuária de lavanderia comercial. Anais do I Seminário Temático FAPESP: "Aplicação do conceito de biorrefinaria a estações de tratamento biológico de águas residuárias: o controle da poluição ambiental aliado à recuperação de matéria e energia";

MUNGRAY, A. K.; KUMAR, P. (2008) Fate of linear alkylbenzene sulfonates in the environment: A review. *International Biodeterioration and Biodegradation* **63**, 981-987;

NARAYANAN, B.; SUIDAN, M. T.; GELDERLOOS, A. B.; BRENNER, C. R. (1995) Anaerobic treatment of volatile and semivolatile organic compounds in municipal wastewater. *Water Environment Research* **67**, 46-56;

NOYAN, K.; ALLI, B.; TAS, D. O.; SOZEN, S.; ORHONB, D. (2017) Relationship between COD particle size distribution, COD fractionation and biodegradation characteristics in domestic sewage. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* (em impressão);

OKADA, D. Y.; DELFORNO, T. P.; ESTEVES, A. S.; SAKAMOTO, I. K.; DUARTE, I. C. S.; VARESCHE, M. B. A. (2013) Optimization of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) degradation in UASB reactors by varying bioavailability of LAS, hydraulic retention time and specific organic load rate. *Bioresource Technology* **128**, 125-133;

OKADA, D. Y.; ESTEVES, A. S.; HIRASAWA, J. S.; ADORNO, M. A. T.; DUARTE, I. C. S.; VARESCHE, M. B. A. (2009) Degradação de alquilbenzeno linear sulfonado em reator anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente. In: VI Congresso de Meio Ambiente da AUGM. São Carlos, Brasil;

OLIVEIRA, L. L.; DUARTE, I. C. S.; SAKAMOTO, I. K.; VARESCHE, M. B. A. (2009) Influence of support material on the immobilization of biomass for the degradation of linear alkylbenzene sulfonate in anaerobic reactors. *Journal of Environmental Management* **90** 1261-1268;

OLIVEIRA, L. L.; COSTA, R. B.; OKADA, D. Y.; VICH, D. V.; DUARTE, I. C. S.; SILVA, E. L.; VARESCHE, M. B. A. (2010) Anaerobic degradation of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) in fluidized bed reactor by microbial consortia in different support materials. *Bioresource Technology* **101**, 5112-5122;

OLMEZ-HANCI T.; ARSLAN-ALATON I.; BASAR G. (2011) Multivariate analysis of anionic, cationic and nonionic textile surfactant degradation with the H₂O₂/UV-C process by using the capabilities of response surface methodology. *Journal of Hazardous Materials* **185**, 193–203;

OZGUN, H.; GIMENEZ, J. B.; ERSAHIN, M. E.; TAO, Y.; SPANJERS, H.; VAN LIER, J. B. (2015) Impact of membrane addition for effluent extraction on the performance and sludge characteristics of upflow anaerobic sludge blanket reactors treating municipal wastewater. *Journal of Membrane Science* **479**, 95-104;

PACHECO, J. W. Guia técnico ambiental de graxarias. São Paulo : CETESB, 2006. 76p. Disponível em: <http://www.crq4.org.br/downloads/graxarias.pdf> acesso em 05/04/2017.

PENA, M. R.; MARA, D. D.; AVELLA, G. P. (2006) Dispersion and treatment performance analysis of an UASB reactor under different hydraulic loading rates. *Water Research* **40**, 445–452;

PLASSCHE E.; BRUIJN, J.; FEIJTEL T. (1997) Risk assessment of four major surfactant groups in the Netherlands – Application of monitoring data. *Tenside, Surfactants, Detergents* **34**, 242-249;

RAMCHARAN, T.; BISSESSUR, A. (2017) Treatment of laundry wastewater by biological and electrocoagulation methods. *Water Science and Technology* **75** 84-93;

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* **58**, 406-411;

ROH, N. S.; SHIN, D. H.; KIM, D. C.; KIM, J. D. (1995) Rheological behaviour of coal-water mixtures. 2. Effect of surfactants and temperature. *Fuel* **74**, 1313-1318;

SANCHEZ, E.; BORJA, R.; TRAVIESO, L.; MARTÍN, A.; COLMENAREJO, M. F. (2005) Effect of organic loading rate on the stability, operational parameters and performance of a secondary upflow anaerobic sludge bed reactor treating piggery waste. *Bioresource Technology* **96**, 335-344;

SANZ, J. L.; CULUBRET, E.; DE FERRER, J.; MORENO, A.; BERNA, J. L. (2003) Anaerobic biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Biodegradation* **14**, 57-64;

SEO, G. T.; LEE, T. S.; MOON, B. H.; LIM, J. H. (2001) Ultrafiltration combined with ozone for domestic laundry wastewater reclamation and reuse. *Water Science and Technology: Water Supply* **1**, 387-392;

SCHMIDT, J. E.; AHRING, B. K. (1996) Granular sludge formation in upflow anaerobic sledgeblanket (UASB) reactors. *Biotechnology and Bioengineering* **49**, 229-246;

SCHREYER, H. B.; COUGHLIN, R. W. (1999) Effects of stratification in a fluidized bed bioreactor during treatment of metalworking wastewater. *Biotechnology and Bioengineering* **63**, 129-140;

SCOTT M. J.; JONES M. N. (2000) The biodegradation of surfactants in the environment - a review. *Biochimica et Biophysica Acta* **1508**, 235-251;

SHELDON, M. S.; ERDOGAN, I. G. (2016) Multi-stage EGSB/MBR treatment of soft drink industry wastewater. *Chemical Engineering Journal* **285**, 368-377;

SOBRINHO, P. A.; TSUTIYA, M. T. (1999) Coleta e transporte de esgoto sanitário. Universidade de São Paulo, 1999;

SOSTAR-TURK, S.; PETRINIC, I.; SIMONIC, M. (2005) Laundry wastewater treatment using coagulation and membrane filtration. *Resources, Conservation and Recycling* **44**, 185-196;

SOUZA, C. L.; AQUINO, S. F.; CHERNICHARO, C. A. L. (2005) Determinação da biodegradabilidade anaeróbia e aeróbia da espuma produzida em reatores UASB tratando esgotos domésticos. In: XV SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, Recife, Brasil;

SOUZA, L. F. C.; FLORENCIO, L.; GAVAZZA, S.; KATO, M. T. (2016) Methanogenic activity inhibition by increasing the linear alkylbenzene sulfonate (LAS) concentration. *Journal of environmental science and health - part A* **8**, 656-660;

STAMS, A. J.; PLUGGE, C. M. (2009) Electron transfer in syntrophic communities of anaerobic bacteria and archaea. *Nature Reviews - Microbiology* **7**, 569-577;

TOLKSDORF, J.; CORNEL, P. (2017) Semicentralized greywater and blackwater treatment for fast growing cities: how uncertain influent characteristics might affect the treatment processes. *Water Science and Technology* **75**, 1722-1731;

TRIPATHI, S. K.; TYAGI, R.; NANDI, B. K. (2013) Removal of Residual Surfactants from Laundry Wastewater: A Review. *Journal of Dispersion Science and Technology* **34**:1526–1534, 2013;

UTSUNOMIYA, A.; WATANUKI, T.; MATSUSHITA, K.; NISHINA, M.; TOMITA, I. (1997) Assessment of the toxicity of linear alkylbenzene sulfonate and quaternary alkylammonium chloride by measuring ¹³C-glycerol in *Dunaliella* sp. *Chemosphere* **35**, 2479-2490;

VENHUIS, S. H.; MEHRVAR, M. (2004) Health effects, environmental impacts, and photochemical degradation of selected surfactants in water. *International Journal of Photoenergy* **6**, 115-125;

VOS, P.; GARRITY, G.; JONES, D.; KRIEG, N.; LUDWIG, W.; RAINEY, F.; WHITMAN, W. (2009) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Volume three: The firmicutes). Springer;

WESTALL, J. C.; CHEN, H.; ZHANG, W.; BROWNAWELL, B. J. (1999) Sorption of linear alkylbenzene sulfonates on sediment materials. *Environmental Science and Technology* **33**, 3110-3118;

WIDDEL, F.; SCHNELL, S.; HEISING, S.; EHRENREICH, A.; ASSMUS, B.; SCHINK, B. (1993) Ferrous iron oxidation by anoxygenic phototrophic bacteria. *Nature* **362**, 834-836;

YAMADA, T., IMACHI, H., OHASHI, A., HARADA, H., HANADA, S., KAMAGATA, Y., & SEKIGUCHI, Y. (2007) *Bellilinea caldifistulae* gen. nov., sp. nov. and *Longilinea arvoryzae* gen. nov., sp. nov., strictly anaerobic, filamentous bacteria of the phylum Chloroflexi isolated from methanogenic propionate-degrading consortia. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **57**, 2299-2306;

YANG, C. W.; TANG, S. L.; CHEN, L. Y.; CHANG, B. V. (2014) Removal of nonylphenol by earthworms and bacterial community change. *International Biodeterioration and Biodegradation* **96**, 9-17;

ZHANG, P.; CHEN, Y.; HUANGB, T.; ZHOUA, Q. (2009) Waste activated sludge hydrolysis and short-chain fatty acids accumulation in the presence of SDBS in semi-continuous flow reactors: Effect of solids retention time and temperature. *Chemical Engineering Journal* **148**, 348-353;

ZHOU, J.; XING, J. (2015) Effect of electron donors on the performance of haloalkaliphilic sulfate-reducing bioreactors for flue gas treatment and microbial degradation patterns related to sulfate reduction of different electron donors. *Biochemical Engineering Journal* **96**, 14-22;

ZHU, T.; ZHANG, Y.; QUAN, X.; LI, H. (2015) Effects of an electric field and iron electrode on anaerobic denitrification at low C/N ratios. *Chemical Engineering Journal* **266**, 241-248.