

THEO SYRTO OCTAVIO DE SOUZA

Desnitrificação autotrófica usando sulfeto como doador de elétrons
para remoção de nitrogênio de efluentes de reatores anaeróbios
utilizados no tratamento de esgotos sanitários

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

Área de Concentração:
Engenharia Hidráulica e Saneamento

Orientador:
Prof. Tit. Eugenio Foresti

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos, SP

2011

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

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

S729d Souza, Theo Syrto Octavio de
Desnitrificação autotrófica usando sulfeto como doador de elétrons para remoção de nitrogênio de efluentes de reatores anaeróbios utilizados no tratamento de esgotos sanitários / Theo Syrto Octavio de Souza ; orientador Eugenio Foresti. -- São Carlos, 2011.

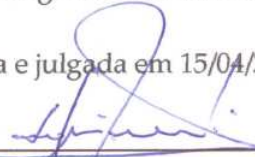
Tese (Doutorado-Programa de Pós-Graduação e Área de Concentração em Engenharia Hidráulica e Saneamento) -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2011.

1. Desnitrificação autotrófica. 2. Remoção de nitrogênio. 3. Sulfeto. 4. Doador de elétrons. 5. Pós-tratamento. 6. Esgoto sanitário. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato (a): Engenheiro **THEO SYRTO OCTAVIO DE SOUZA**

Tese defendida e julgada em 15/04/2011 perante a Comissão Julgadora:



Prof. Titular **EUGENIO FORESTI – (Orientador)**
(Escola de Engenharia de São Carlos/USP)

APROVADO



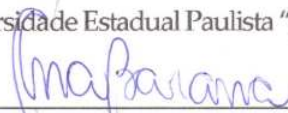
Prof. Associado **MARCELO ZAIAT**
(Escola de Engenharia de São Carlos/USP)

Aprovado



Prof. Dr. **MARCELO LOUREIRO GARCIA**
(Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/UNESP/campus de Rio Claro)

APPROVADO




Prof.^a. Dr.^a. **ANA CLAUDIA BARANA**
(Universidade Estadual de Ponta Grossa/UEPG)

APPROVADO




Prof.^a. Dr.^a. **MARIA DE LOURDES FLORENCIO DOS SANTOS**
(Universidade Federal de Pernambuco/UFPE)

APPROVADO



Prof. Titular **EDSON CEZAR WENDLAND**
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Hidráulica e Saneamento.



Prof. Associado **PAULO CÉSAR LIMA SEGANTINE**
Presidente da Comissão da Pós-Graduação da EESC

Aos meus pais, Lucas e Sandra, que sempre conduziram suas vidas com incalculável empenho, sabedoria e generosidade, expandindo seus ideais e iluminando tudo ao seu redor.

AGRADECIMENTOS

Ao espetáculo divino e enigmático da vida, que expõe os seres que dele participam a infinitas possibilidades de experiências, sob as asas da natureza, eternamente com o intuito de torná-los mais dignos e sábios.

Aos meus pais, Lucas e Sandra, por priorizarem a educação dos filhos acima de tudo e pelo suporte incondicional em todas as etapas e decisões da minha vida, e das vidas de meus irmãos. Muito obrigado pela sabedoria, felicidade e serenidade irradiadas, e pela luz nos momentos de escuridão.

Aos meus irmãos, Thiago e Lucas, meus companheiros e protetores desde os primórdios, e com quem tenho a honra de compartilhar minha história até o fim dos tempos.

A todos os meus familiares, cada qual tendo papel fundamental na minha vida e grande influência sobre minha personalidade. Aos avós Zé Cacique (*in memoriam*), Maria de Lourdes (*in memoriam*), Luízinha (*in memoriam*), e ao vigoroso Zé Syrto. Aos tios Armando, Fátima, Hamilton, Laura, Luzia Helena, Marisa, Mazé, Palmyro, Waltinho e Zé Octavio. À tia Quina e à tia Nice. Aos primos Bia, Caio, Cássia, Larissa, Fábio, Frederico, Gabriel, Gustavo, Júlia, Renata, Renato, Rodrigo e Vitor. Às cunhadas Camila e Fernanda.

Ao Prof. Eugenio Foresti, por me acolher como pupilo desde a iniciação científica até o doutorado. Serei eternamente grato pela confiança depositada ao longo de meu desenvolvimento acadêmico nestes últimos anos, pela sugestão do doutorado direto, por me iluminar com sua sabedoria, por dar vazão aos meus devaneios científicos e pela valiosa amizade. Espero retribuir tudo o que fez por mim, honrando-o sempre como modelo de professor, pesquisador e ser humano que é.

Ao Prof. Marcelo Zaiat, pela participação ao longo de toda a pesquisa, sempre com críticas e sugestões muito bem-vindas, pela eficiência profissional que continuamente demonstra, pelas conversas bem-humoradas na hora do café e pela amizade.

Ao professor e veterano de graduação, Marcelo Garcia, pelo incentivo durante o doutorado, pelo auxílio com o tratamento dos dados de biologia molecular, pelo exemplo de eficácia, precisão e seriedade e pela amizade.

Aos professores do Laboratório de Processos Biológicos, Prof^ª. Maria Bernadete Varesche, Prof^ª. Márcia Damianovic e Prof. Wyclef Dimurgo Marra Junior, pelo auxílio e convivência ao longo dos últimos anos. Ao Prof. Benedito Rodrigues e sua esposa, Dona Vera, e ao Prof. Rodrigo de Melo Porto, do Departamento de Hidráulica e Saneamento, que gentilmente estiveram sempre na torcida pelo meu sucesso profissional, desde a época da graduação.

Aos meus mentores da iniciação científica, Katt Lapa e Luis Hamilton Garbossa, pelos valiosos ensinamentos pessoais e de laboratório, utilizados constantemente ao longo deste doutorado. A paixão com que realizaram suas pesquisas de doutorado teve grande influência sobre mim e sobre minha decisão de também fazer pós-graduação.

À divertidíssima amiga Dani Vich, acima de tudo por ser autêntica até o último fio de cabelo. Autêntica nas alegrias, autêntica nas tristezas, autêntica nas opiniões, medos e esperanças. Faltam palavras para dizer o quanto sou grato à sua presença constante nos últimos anos, às conversas sempre muito engraçadas, às incontáveis horas que dedicou para auxiliar nas análises de biologia molecular, aos ensinamentos em dias de sol e de chuva, ao acolhimento na sua bondosa família, a quem também sou grato, e à contínua defesa da liberdade e do direito irreprensível de ser feliz, em um mundo que replede com rótulos, padrões e fórmulas. Para uma pessoa tão autêntica, só existe um destino possível: a raríssima felicidade autêntica. Graças à Dani, aprendi a também ser autêntico, e a me aventurar na busca deste tipo de felicidade.

À querida amiga e companheira de trabalho, Bruna Moraes, que dividiu comigo nos últimos anos os desafios e provações enfrentados na nossa temática mútua de pesquisa. Juntos, fomos audaciosos domadores da terrível e fétida criatura denominada “Sulfeto”, e tentamos subjugar-la aos nossos propósitos com coragem e bom-humor. Muito obrigado pela amizade, pelas conversas divertidas, pelos sempre úteis conselhos de pesquisa, pela ótima companhia durante a viagem ao Canadá e pela paciência que sempre teve comigo. Deixo aqui suas palavras mágicas, que eternamente serão lembradas: “Aí, sim!”.

Ao impetuoso amigo Gustavo Mockaitis, que, em épocas de tempestuosa injustiça, mergulha como um relâmpago e ressoa como um trovão para dissipar as trevas e lutar por um mundo mais digno e justo. Sou muito grato por sua contínua preocupação com os amigos, pelo exemplo de paixão científica com que conduz seu trabalho, pelas conversas filosóficas e geeks, pela identidade mental que compartilhamos em vários aspectos, por estar sempre disposto a ajudar todos ao seu redor e por deixar clara, de maneira incisiva, a importância da valorização da essência das pessoas, em detrimento das análises superficiais.

À querida amiga Renata Rodriguez, pela amizade, pelo incentivo ao longo de todo o doutorado, pelos conselhos e ajuda nos experimentos, pelo exemplo de perseverança e eficiência profissional e pelas recepções, jantares e reuniões de amigos sempre com muito carinho. Uma pessoa assim merece muitos cafés em Paris, e com certeza os terá.

Ao amigo cosmonauta Jorge Pantoja, incansável transgressor das fronteiras do saber, agradeço pelo constante apoio em todos os momentos, pelo exemplo de luta pelos próprios sonhos, pela eterna disposição em fazer sugestões e ajudar na realização dos experimentos e pela fiel amizade. A ele, deixo uma mensagem intergaláctica: “Apenas que... busque conhecimento”.

Aos meus irmãos canídeos, os boxers Roy (*in memoriam*) e Odin, que, não importando meu estado de espírito, em dias de alegria, tristeza, ansiedade ou desespero, sempre se sentaram ao meu lado, abanaram seus rabos e babaram em mim com o mesmo carinho.

Ao querido amigo Betão Leite (ou Betão Milk, para os internacionais), que todos apelidamos carinhosamente de “Velho”, mas que, no fundo, sabemos que é mais jovem do que todos nós jamais seremos. Ao divertido amigo Tiago “Bacão” Martins que, sempre cheio de “alergia”, nunca deixou que o “pé do frango azedasse” para as pessoas à sua volta. Às simpáticas, competentes e bem-humoradas “professoras-estagiárias” Ana Cláudia Barana e Deize Lopes. Ao compenetrado amigo Rafael Brito, pelo exemplo de profissionalismo e eficiência e pela ajuda com diversas análises de laboratório.

Às minhas amigas e companheiras de sistema piloto, Débora Fonseca e Flávia Saia, pela confiança em mim como pesquisador, a ponto de decidirem acoplar suas pesquisas à minha. Sou grato pela paciência e respeito com que acompanharam meu cronograma, sempre

sujeito a instabilidades devido a problemas operacionais do sistema, pelo apoio incondicional em todas as decisões e pela amizade. Espero, sinceramente, que as amostras retiradas do sistema piloto sejam úteis em suas pesquisas, e que rendam resultados frutíferos.

Aos amigos e companheiros da Casinha, Adis Brown, Antônio Pedro de Oliveira Netto, Guilherme Peixoto e Vinícius Rocha, pela convivência e auxílio nas atividades experimentais do sistema piloto montado por lá, e por provarem que, mesmo em um ambiente onde imperam o esgoto sanitário, o mau-cheiro e os animais peçonhentos, pode haver amizade e felicidade.

Aos amigos da época das disciplinas de pós-graduação: Aline Tavares, Ana Flávia Pontes, André Pioltine, Ju Lourenção, Juliana Tinôco, Maribel Roque, Paulo Santos, Rafael Ceribelli e Ricardo Oliveira. A todos os amigos e colegas do Laboratório de Processos Biológicos e do Departamento de Hidráulica e Saneamento com quem convivi nos últimos anos: Adriana Braga, Andrey Rosa, Andreza Oliveira, Ariane Silva, Carol Zampol, Dagoberto Okada, Daniel Fontes, Djalma Ferraz, Eduardo Penteado, Fabiana Mestrinelli, Fabrício Moterani, Filipe Ferreira, Gabriel Souto, Glauce Pereira, Gláucio Souza, Guilherme Nascimento, Júlia Hirasawa, Juliana Kawanishi, Lissa Nocko, Lívia Botta, Lorena Oliveira, Lucas Marcon, Mara Lima, Mariana Carosia, Pilar Anzola, Nora Kátia Saavedra, Priscila Camiloti, Raquel Rossi, Regiane Corrêa, Regiane Ratti, Sandra Maintinguer, Tiago Palladino, Tatiana Chaparro e Verónica Perna.

Aos alunos de iniciação científica Anne Malvestio, Erica Sumita, Guilherme Oliveira, Henrique Sonobe, Mariana Guardia, Maurício Mayor e Rachel Biancalana. Que sigam suas vidas profissionais com a mesma competência com que conduziram seus trabalhos de iniciação.

Aos técnicos do Laboratório de Processos Biológicos, pelo auxílio com análises e experimentos: Elô Pozzi, Isabel Sakamoto e Janja Adorno. Aos funcionários do Prédio da Engenharia Ambiental: Dona Ângela, Seu Antônio, Camilo, Seu Carlos, Derli, Seu Edson, Fernando, Irene e Silvana.

Às secretárias do Departamento de Hidráulica e Saneamento, Pavi, Rose e Sá. Ao pessoal do financeiro, Fernanda e Flávia.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão das bolsas e pelo apoio financeiro ao projeto de pesquisa.

E, finalmente, à cidade de São Carlos, à Universidade de São Paulo e à Escola de Engenharia de São Carlos, por terem sido meus lares nos últimos nove anos, por disponibilizarem toda sua estrutura ao longo da graduação e pós-graduação, por proporcionarem experiências e amizades incríveis e por possibilitarem meu desenvolvimento como profissional e ser humano.

“**A** melhor coisa a fazer quando se está triste é aprender alguma coisa. Essa é a única coisa que nunca falha. Você pode ficar velho e trêmulo em sua anatomia, pode passar a noite acordado escutando a desordem de suas veias, pode sentir saudades de seu único amor, pode ver o mundo ao seu redor ser devastado por lunáticos malvados ou saber que sua honra foi pisoteada no esgoto das mentes baixas. Só há uma coisa para isso: aprender. Aprender por que o mundo gira e o que o faz girar. Essa é a única coisa da qual a mente não pode jamais se cansar, nem se alienar, nem se torturar, nem temer ou descreer, e nunca sonhar em se arrepender. Aprender é o que lhe resta.”

Alocução de Merlin ao menino Wart, futuro Rei Arthur, em *A Espada na Pedra*, de T. H. White (1906-1964) (Edição brasileira, W11 Editores, São Paulo, 2004).

RESUMO

SOUZA, T. S. O. **Desnitrificação autotrófica usando sulfeto como doador de elétrons para remoção de nitrogênio de efluentes de reatores anaeróbios utilizados no tratamento de esgotos sanitários**. 2011. 167 f. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

A remoção de nitrogênio é um aspecto importante do tratamento de águas residuárias, visto que este nutriente causa diversos inconvenientes, com consequentes danos à saúde humana e ao meio ambiente. A forma mais utilizada para a remoção biológica de nitrogênio de águas residuárias é a nitrificação autotrófica seguida de desnitrificação heterotrófica. Esta última etapa necessita de doadores de elétrons orgânicos, provenientes de fontes endógenas ou exógenas. Isto pode encarecer os sistemas de tratamento que utilizam reatores anaeróbios como primeira unidade de tratamento biológico, já que os efluentes destes não possuem matéria orgânica prontamente degradável, exigindo a adição de fontes exógenas de doadores de elétrons. Neste sentido, a desnitrificação autotrófica usando compostos reduzidos de enxofre como doadores de elétrons mostra-se interessante, já que sulfetos são comumente encontrados em efluentes anaeróbios. O objetivo deste projeto de pesquisa é a avaliação da desnitrificação autotrófica usando sulfeto como doador de elétrons para remoção de nitrogênio de efluentes de reatores anaeróbios tratando esgoto sanitário. Para atingir esse objetivo, foram realizados estudos exploratórios, de viabilidade e aplicabilidade do processo. Na primeira etapa, foram operados reatores em batelada para caracterização cinética, operacional e microbiológica do processo. Na segunda etapa, utilizou-se sistema de reatores contínuos em escala de bancada para remoção de nitrogênio de esgoto sanitário sintético. Por fim, na terceira etapa foi operado sistema piloto com nova configuração para tratamento secundário e terciário de esgoto sanitário real. A ocorrência da desnitrificação autotrófica foi detectada nas duas primeiras etapas, e houve indícios de sua presença na terceira etapa da pesquisa. Na primeira etapa, nitrato e nitrito foram aplicados com sucesso como receptores de elétrons, e o processo manteve-se estável apenas quando a relação $\text{NO}_x^-/\text{S}^{2-}$ apresentou valores menores do que a estequiométrica. Modelos cinéticos de ordem zero foram os que melhor se ajustaram aos dados de consumo dos receptores de elétrons, e os parâmetros máximos obtidos foram 7,05 e 5,02 $\text{mg N.h}^{-1}.\text{gSSV}^{-1}$, para nitrato e nitrito respectivamente. Análises filogenéticas revelaram a presença de organismos semelhantes a *Thiobacillus denitrificans*, bactéria desnitrificante quimiolitotrófica usualmente associada ao processo. Na segunda e terceira etapas, foi possível a remoção global de nitrogênio de, em média, 40% apenas com doadores de elétrons endógenos, através da nitrificação de 40 a 60% da vazão total e posterior mistura com a fração não-nitrificada. A perda de sulfeto nos reservatórios intermediários do sistema de reatores da segunda etapa foi considerada um obstáculo ao processo, que foi solucionado com a nova configuração proposta na terceira etapa e aplicada em escala piloto. Embora a gama variada de processos possíveis em seu interior não tenha sido completamente elucidada, o sistema piloto promoveu tratamento secundário e terciário de esgoto sanitário, com remoção de nitrogênio e atendimento aos padrões de emissão deste parâmetro. Os resultados obtidos na pesquisa mostraram que o processo é versátil e pode coexistir com outros processos, apresentando viabilidade e potencial no tratamento de efluentes de reatores anaeróbios utilizados no tratamento de esgotos sanitários.

Palavras-chave: Desnitrificação autotrófica. Remoção de nitrogênio. Sulfeto. Doador de elétrons. Pós-tratamento. Esgoto sanitário.

ABSTRACT

SOUZA, T. S. O. **Autotrophic denitrification using sulfide as electron donor for nitrogen removal from anaerobically pre-treated domestic sewage**. 2011. 167 f. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

Nitrogen removal is an important aspect of wastewater treatment, for this nutrient causes several issues, with damages to human health and to the environment. The most used technique for biological nitrogen removal from wastewaters is autotrophic nitrification followed by heterotrophic denitrification. The latter needs organic electron donors from endogenous or exogenous sources, which can increase treatment costs for plants that rely on anaerobic reactors as their first biological unit, since their effluents do not have enough readily biodegradable organic matter, demanding the addition of exogenous sources of electron donors. In this way, autotrophic denitrification using reduced sulfur compounds as electron donors could be an interesting alternative, for sulfides are usually present in anaerobically pre-treated effluents. The aim of this research is to evaluate autotrophic denitrification using sulfide as electron donor for nitrogen removal from anaerobically pre-treated domestic sewage. For this, exploratory, viability and applicability studies of the process were performed. In the first part of the experiments, batch assays were conducted for kinetic, operational and microbiological characterization of the process. In the second part, a bench-scale system composed of three continuous reactors was used to remove nitrogen from synthetic domestic sewage. And, finally, in the third part a pilot-scale system presenting a new configuration was operated for secondary and tertiary treatment of real domestic sewage. Autotrophic denitrification was detected in the first two parts, and there were evidences of its presence in the third part of the research. In the first part, nitrate and nitrite were applied successfully as electron acceptors, and the process remained stable only when the $\text{NO}_x^-/\text{S}^{2-}$ ratio was lower than the predicted by stoichiometry. Zero-order kinetic models were the ones that best adjusted to the electron acceptors consumption data, and the maximum obtained parameters were 7.05 and 5.02 $\text{mg N}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{gVSS}^{-1}$, for nitrate and nitrite respectively. Phylogenetic analyses indicated the presence of organisms similar to *Thiobacillus denitrificans*, a chemolithotrophic denitrifying bacterium usually associated to the process. In the second and third parts, an average global nitrogen removal of 40% could be achieved using endogenous electron donors only, by nitrifying 40 to 60% of the total flow and later mixing it with the remaining non-nitrified fraction. Sulfide loss in the intermediary tanks of the reactors system operated in the second part was considered an obstacle to the process, which was solved with the new pilot-scale configuration proposed in the third part of the research. Although the wide range of possible processes in its interior was not fully understood, the pilot-scale system promoted secondary and tertiary treatment of domestic sewage, removing nitrogen and obeying the emission standards for this parameter. The results obtained in this research indicated that the process is versatile and can coexist with other processes, being thus viable and presenting potential in the treatment of anaerobically pre-treated domestic sewage.

Keywords: Autotrophic denitrification. Nitrogen removal. Sulfide. Electron donor. Post-treatment. Domestic sewage.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 4.1 – Esquema da estrutura experimental da pesquisa.....	47
Figura 4.2 – Reatores utilizados na primeira etapa da pesquisa.....	49
Figura 4.3 – Aspecto do lodo de inóculo após fragmentação dos grânulos.	50
Figura 4.4 – Vistas dos reatores operados na segunda etapa da pesquisa: (a) vista lateral do reator UASB aplicado para digestão anaeróbia (R1); (b) vista superior de R1; (c) vista lateral do reator nitrificante (R2); (d) vista lateral do reator desnitrificante (R3). As medidas estão apresentadas em cm.	58
Figura 4.5 – Esquema experimental da segunda etapa da pesquisa: (1) esgoto sanitário sintético; (2) bomba para alimentação de R1; (3) reator UASB para digestão anaeróbia (R1); (4) esgoto doméstico pré-tratado anaerobiamente; (5) bomba para alimentação de R2; (6) reator nitrificante (R2); (7) compressor de ar; (8) efluente nitrificado; (9) mistura dos efluentes dos reatores R1 e R2; (10) bomba para alimentação de R3; (11) reator UASB para desnitrificação (R3); (12) bomba de recirculação; (13) efluente final.	59
Figura 4.6 – Reatores operados na segunda etapa da pesquisa, em funcionamento: (a) R1; (b) R2; (c) R3.	60
Figura 4.7 – Material suporte utilizado no reator R2, na segunda etapa da pesquisa: (a) detalhe; (b) no reator em operação.	62
Figura 4.8 – Frasco de alimentação do reator R3, na segunda etapa da pesquisa.	69
Figura 4.9 – Esquema geral do sistema de reatores em escala piloto utilizado na terceira etapa da pesquisa para tratamento de esgoto sanitário real. As medidas estão apresentadas em cm.	71
Figura 4.10 – Vista dos Biobobs [®] e dimensões. Fonte: www.bioproj.com.br	72
Figura 4.11 – Modulação dos reatores do sistema DANDE.	73
Figura 4.12 – Vistas dos módulos componentes do sistema DANDE: (a) módulo inferior suporte, acoplado a um dos módulos de 1,0 m; (b) placa perfurada para separação dos compartimentos; (c) tubulação de distribuição de efluente; (d) tubulação de coleta de efluente.	76
Figura 4.13 – Poços de inspeção para coleta do material suporte nos compartimentos.....	76
Figura 4.14 – Localização das tomadas de amostra e poços de inspeção do sistema DANDE.	77
Figura 4.15 – Procedimento para empilhamento dos módulos do sistema DANDE com material suporte já inserido: (a) módulo invertido com material suporte e tela de insetos para contenção; (b) retirada da tela por deslizamento após empilhamento dos módulos.	78
Figura 4.16 – Processo de montagem do corpo dos reatores do sistema DANDE: (a) um módulo de RA empilhado sobre o suporte; (b) dois módulos de RA empilhados; (c) três módulos de RA empilhados, mostrando procedimento de empilhamento com auxílio de escada; (d) RA e RB montados.....	79
Figura 4.17 – Detalhes da instalação das bombas e da tubulação de sucção do sistema DANDE: (a) bombas acopladas aos reatores; (b) válvula de pé com crivo inserida em cesto de inox perfurado; (c) conjunto de sucção no interior do reservatório de esgoto sanitário.	80

Figura 4.18 – Detalhe do contraventamento entre os reatores RA e RB do sistema DANDE.	81
Figura 4.19 – Vista do sistema DANDE completamente montado, ao centro.	81
Figura 4.20 – Área de Pesquisa em Tratamento de Esgoto Sanitário do Laboratório de Processos Biológicos (LPB), para experimentos com esgoto sanitário real: (a) vista do edifício; (b) reservatório de esgoto sanitário para alimentação dos reatores.	83
Figura 5.1 – Concentração de sulfeto ao início e final dos ciclos durante operação com nitrato como receptor de elétrons, na primeira etapa. Legenda: (●) início do ciclo; (○) final do ciclo; (----) concentrações teóricas adicionadas. As barras verticais representam o desvio padrão das triplicatas.	91
Figura 5.2 – Frações das três formas químicas do sulfeto, em função do pH do meio. Fonte: adaptado de Speece (1983).	92
Figura 5.3 – Enxofre recuperado na forma de sulfato, após oxidação do sulfeto adicionado, durante operação com nitrato como receptor de elétrons na primeira etapa. Legenda: (○) valores obtidos. As barras verticais representam o desvio padrão das triplicatas.	93
Figura 5.4 – Concentração de nitrato ao início e final dos ciclos durante operação com nitrato como receptor de elétrons na primeira etapa. Legenda: (●) início do ciclo; (○) final do ciclo. As barras verticais representam o desvio padrão das triplicatas.	95
Figura 5.5 – Concentração de nitrito ao início e final dos ciclos durante operação com nitrato como receptor de elétrons na primeira etapa. Legenda: (●) início do ciclo; (○) final do ciclo. As barras verticais representam o desvio padrão das triplicatas.	95
Figura 5.6 – Concentração de sulfeto ao início e final dos ciclos durante operação com nitrito como receptor de elétrons na primeira etapa. Legenda: (●) início do ciclo; (○) final do ciclo; (- ---) concentrações teóricas adicionadas. As barras verticais representam o desvio padrão das triplicatas.	97
Figura 5.7 – Enxofre recuperado na forma de sulfato, após oxidação do sulfeto adicionado, durante operação com nitrito como receptor de elétrons na primeira etapa. Legenda: (○) valores obtidos. As barras verticais representam o desvio padrão das triplicatas.	98
Figura 5.8 – Concentração de nitrito ao início e final dos ciclos durante operação com nitrito como receptor de elétrons na primeira etapa. Legenda: (●) início do ciclo; (○) final do ciclo. As barras verticais representam o desvio padrão das triplicatas.	99
Figura 5.9 – Ajustes cinéticos para consumo de nitrato nos perfis 1 (a) e 2 (b) realizados usando nitrato como receptor de elétrons na primeira etapa. Legenda: (●) Reator 1; (■) Reator 2; (▲) Reator 3. As retas representam o melhor ajuste de ordem zero aos pontos dos perfis.	101
Figura 5.10 – Ajustes cinéticos para consumo de nitrito nos perfis 1 (a) e 2 (b) realizados usando nitrito como receptor de elétrons na primeira etapa. Legenda: (●) Reator 1; (■) Reator 2; (▲) Reator 3. As retas representam o melhor ajuste de ordem zero aos pontos dos perfis.	104
Figura 5.11 – Perfis temporais 1 (a) e 2 (b) de concentração de sulfeto e sulfato, usando nitrato como receptor de elétrons na primeira etapa. Legenda: (●) Sulfeto - Reator 1; (■) Sulfeto - Reator 2; (▲) Sulfeto - Reator 3; (○) Sulfato - Reator 1; (□) Sulfato - Reator 2; (Δ) Sulfato - Reator 3.	108

Figura 5.12 – Microscopias ópticas de contraste de fase de amostras dos ensaios em frascos da primeira etapa: (a) aglomerado de bacilos; (b) bacilos dispersos; (c) conjunto de filamentosas; (d) agrupamento de cocos; (e) morfologias semelhantes a <i>Methanosarcina sp.</i> ; (f) formas luminosas semelhantes a enxofre elementar.....	110
Figura 5.13 – Gel de DGGE obtido para amostras do inóculo e após operação com nitrato como receptor de elétrons na primeira etapa.	111
Figura 5.14 – Diversidade de filós obtida através das análises de biologia molecular para os reatores em batelada operados na primeira etapa da pesquisa.....	112
Figura 5.15 – Árvore filogenética (parcimônia interativa) contendo clones relacionados a membros dos filós <i>Firmicutes</i> e <i>Proteobacteria</i> , construída através do software ARB a partir de uma árvore existente de máxima semelhança.	114
Figura 5.16 – Resultados obtidos durante a operação do reator R3 na segunda etapa, com relação aos compostos de enxofre, para cada condição de alimentação: (●) sulfeto afluente; (○) sulfeto efluente; (X) produção de sulfato.	117
Figura 5.17 – Resultados obtidos durante a operação do reator R3 na segunda etapa, com relação aos compostos de nitrogênio, para cada condição de alimentação: (●) nitrato afluente; (○) nitrato efluente; (+) nitrito efluente; (X) eficiência de remoção de nitrato.	117
Figura 5.18 – Resultados de DQO filtrada obtidos durante a operação do reator R3 na segunda etapa, para cada condição de alimentação. Legenda: (●) afluente; (○) efluente.	121
Figura 5.19 – Resultados de potencial de óxido-redução (pOR) obtidos durante a operação do reator R3 na segunda etapa, para cada condição de alimentação. Legenda: (●) afluente; (○) efluente.	122
Figura 5.20 – Microscopia óptica de contraste de fase para amostras de biomassa de R3, na segunda etapa da pesquisa: (a) colônia de organismos semelhantes a bacilos; (b) formas luminosas semelhantes a enxofre elementar; (c) agrupamento de bacilos e bacilos dispersos; (d) morfologias filamentosas; (e) aglomerado de bacilos e cocos; (f) protozoário.	124
Figura 5.21 – Concentrações de DQO total e filtrada nos perfis temporais do esgoto sanitário real. Legenda: (●) DQO total – Perfil 1; (▲) DQO total – Perfil 2; (■) DQO total – Perfil 3; (○) DQO filtrada – Perfil 1, (Δ) DQO filtrada – Perfil 2; (□) DQO filtrada – Perfil 3.....	125
Figura 5.22 – Concentrações de nitrogênio amoniacal nos perfis temporais do esgoto sanitário real. Legenda: (●) Perfil 1; (▲) Perfil 2; (■) Perfil 3.....	126
Figura 5.23 – Concentrações de sulfato nos perfis temporais do esgoto sanitário real. Legenda: (●) Perfil 1; (▲) Perfil 2; (■) Perfil 3.....	126
Figura 5.24 – Concentrações de DQO total (a) e DQO filtrada (b) medidas durante período de adaptação do reator RA na terceira etapa. Legenda: (●) afluente; (□) efluente do compartimento inferior; (○) efluente do compartimento superior (efluente final).....	128
Figura 5.25 – Concentrações de AB (a) e AVT (b) medidas durante período de adaptação do reator RA na terceira etapa. Legenda: (●) afluente; (□) efluente do compartimento inferior; (○) efluente do compartimento superior (efluente final).	129
Figura 5.26 – Material suporte de RA limpo (esquerda) e colonizado após período de adaptação de RA (direita), na terceira etapa da pesquisa.	130
Figura 5.27 – Proporção de efluente enviado a RB para nitrificação ao longo da operação do sistema piloto.	131

Figura 5.28 – Concentrações de sulfeto (a) e sulfato (b) obtidas durante monitoramento do compartimento inferior de RA, na terceira etapa. Legenda: (●) afluente; (○) efluente.	132
Figura 5.29 – Valores de potencial de óxido-redução (pOR) obtidos para o efluente coletado imediatamente acima do compartimento inferior de RA, na terceira etapa.	133
Figura 5.30 – Concentrações de nitrogênio amoniacal obtidas durante monitoramento do compartimento inferior de RA, na terceira etapa. Legenda: (●) afluente; (○) efluente.	135
Figura 5.31 – Concentrações de nitrogênio amoniacal obtidas durante monitoramento do reator RB, na terceira etapa.	138
Figura 5.32 – Concentrações de nitrito obtidas durante monitoramento do reator RB, na terceira etapa.	139
Figura 5.33 – Concentrações de nitrato obtidas durante monitoramento do reator RB, na terceira etapa.	140
Figura 5.34 – Concentrações de sulfeto (a) e sulfato (b) obtidas durante monitoramento do compartimento superior de RA, na terceira etapa. Legenda: (●) afluente; (○) efluente.	142
Figura 5.35 – Valores de potencial de oxi-redução (pOR) obtidos durante monitoramento do compartimento superior de RA, na terceira etapa. Legenda: (●) afluente; (○) efluente.	143
Figura 5.36 – Concentrações de nitrogênio amoniacal obtidas durante monitoramento do compartimento superior de RA, na terceira etapa. Legenda: (●) afluente; (○) efluente.	144
Figura 5.37 – Concentrações de nitrato obtidas durante monitoramento do compartimento superior de RA, na terceira etapa. Legenda: (●) afluente; (○) efluente.	144
Figura 5.38 – Perfis espaciais de oxigênio dissolvido (OD) realizados para o reator RA na fase II da terceira etapa da pesquisa: (a) corpo do reator para visualização da localização dos resultados; (b) valores obtidos. Legenda: (●) Perfil 1 – dia 158; (▲) Perfil 2 – dia 166.	146
Figura 5.39 – Perfis espaciais de potencial de óxido-redução (pOR) realizados para o reator RA na fase II da terceira etapa da pesquisa: (a) corpo do reator para visualização da localização dos resultados; (b) valores obtidos. Legenda: (●) Perfil 1 – dia 158; (▲) Perfil 2 – dia 166; (■) Perfil 3 – dia 184.	147
Figura 5.40 – Perfis espaciais de nitrogênio amoniacal realizados para o reator RA na fase II da terceira etapa da pesquisa: (a) corpo do reator para visualização da localização dos resultados; (b) valores obtidos. Legenda: (●) Perfil 1 – dia 179; (▲) Perfil 2 – dia 185.	148
Figura 5.41 – Perfis espaciais de oxigênio dissolvido (OD) realizados para o reator RB na fase II da terceira etapa da pesquisa: (a) corpo do reator para visualização da localização dos resultados; (b) valores obtidos. Legenda: (●) Perfil 1 – dia 158; (▲) Perfil 2 – dia 166.	149
Figura 5.42 – Perfis espaciais de nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato realizados para o reator RB na fase II da terceira etapa da pesquisa: (a) corpo do reator para visualização da localização dos resultados; (b) valores obtidos – dia 190. Legenda: (●) nitrato; (▲) nitrogênio amoniacal; (■) nitrito.	150
Figura 5.43 – Perfil temporal realizado para o efluente final do sistema, na terceira etapa da pesquisa. Legenda: (●) nitrogênio amoniacal; (▲) nitrato; (■) nitrito.	151
Figura 5.44 – Monitoramento da composição do biogás coletado no topo do reator RA, na terceira etapa da pesquisa. Legenda: (■) N ₂ ; (■) CH ₄ ; (■) CO ₂ ; (■) H ₂ S.	152

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 – Componentes do efluente sintético utilizado para a alimentação dos reatores na primeira etapa.	51
Tabela 4.2 – Concentração de micronutrientes proposta por Beristain-Cardoso et al. (2006).	52
Tabela 4.3 – Características dos reatores contínuos em escala de bancada operados na segunda etapa.....	57
Tabela 4.4 – Composição do esgoto sanitário sintético utilizado na segunda etapa da pesquisa.	64
Tabela 4.5 – Composição do meio sintético para nitrificação utilizado na segunda etapa da pesquisa.	65
Tabela 4.6 – Condições experimentais estudadas na operação do reator R3 na segunda etapa da pesquisa.....	65
Tabela 4.7 – Concentrações de sulfeto adicionadas para correção da alimentação de R3 nas diferentes fases da segunda etapa da pesquisa.....	66
Tabela 4.8. Características do Biobob [®] , segundo o fabricante.....	73
Tabela 4.9 – Características gerais do sistema DANDE.	74
Tabela 4.10 – Alturas, em relação à base, das tomadas de amostra e poços de inspeção do sistema DANDE.	77
Tabela 4.11 – Análises físico-químicas executadas nas diferentes etapas.	87
Tabela 5.1 – Resultados médios obtidos na operação com nitrato como receptor de elétrons, na primeira etapa.	91
Tabela 5.2 – Resultados médios obtidos na operação com nitrito como receptor de elétrons, na primeira etapa.	97
Tabela 5.3 – Valores de parâmetros cinéticos e coeficientes de determinação (R^2) obtidos nos perfis da primeira etapa, com diferentes tipos de ajuste.....	100
Tabela 5.4 – Resultados médios de monitoramento obtidos durante a operação dos reatores R1 e R2, na segunda etapa da pesquisa.	115
Tabela 5.5 – Resultados médios medidos no efluente e eficiências de remoção obtidas para o reator R3, na segunda etapa da pesquisa.	118
Tabela 5.6 – Valores mínimos, médios e máximos obtidos nos perfis temporais realizados para o esgoto sanitário real.	127
Tabela 5.7 - Resultados médios obtidos para o compartimento inferior do reator RA, durante a operação do sistema DANDE na terceira etapa da pesquisa.	137
Tabela 5.8 - Resultados médios obtidos para o efluente do reator RB, durante a operação do sistema DANDE na terceira etapa da pesquisa.	140
Tabela 5.9 - Resultados médios obtidos para o compartimento superior do reator RA, durante a operação do sistema DANDE na terceira etapa da pesquisa.	145

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AB	Alcalinidade a Bicarbonato
ANAMMOX	<i>Anaerobic Ammonium Oxidation</i>
AVT	Ácidos Voláteis Totais
B1	Bomba de alimentação de RA no sistema DANDE
B2	Bomba de alimentação de RB no sistema DANDE
Bardenpho	<i>Barnard Denitrification Phosphorus removal</i>
CANON	<i>Complete Autotrophic Nitrogen-removal Over Nitrite</i>
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
DANDE	Digestão Anaeróbia, Nitrificação e Desnitrificação Endógena
DEAMOX	<i>Denitrifying Ammonium Oxidation</i>
DGGE	<i>Denaturing Gradient Gel Electrophoresis</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DQO	Demanda Química de Oxigênio
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LPB	Laboratório de Processos Biológicos
M1...M8	Módulos do sistema DANDE
MINF	Módulos inferiores do sistema DANDE
MSUP	Módulos superiores do sistema DANDE
N-Amon	Nitrogênio Amoniacal
NTK	Nitrogênio Total Kjeldahl
OD	Oxigênio Dissolvido
OLAND	<i>Oxygen-Limited Autotrophic Nitrification-Denitrification</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
pH	Potencial Hidrogeniônico
pOR	Potencial de Óxido-Redução
PVC	Cloreto de Polivinila
R1	Reator para digestão anaeróbia operado na segunda etapa
R2	Reator nitrificante operado na segunda etapa
R3	Reator desnitrificante operado na segunda etapa
RA	Reator compartimentado anaeróbio-anóxico do sistema DANDE
RB	Reator nitrificante do sistema DANDE

RAAHLF	Reator Aeróbio-Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo
RMRLF	Reator Misto Radial de Leito Fixo
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i>
RNAr	RNA ribossomal
SHARON	<i>Single-reactor High-Activity Ammonium Removal Over Nitrite</i>
SLAD	<i>Sulfur-Limestone Autotrophic Denitrification</i>
SSV	Sólidos Suspensos Voláteis
SVT	Sólidos Voláteis Totais
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica
UASB	<i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i>
USP	Universidade de São Paulo
UV	Radiação Ultravioleta
VSS	<i>Volatile Suspended Solids</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

$^{\circ}\text{C}$	graus Celsius
C	massa de NO_x^- por massa de SSV
C_0	massa inicial de NO_x^- por massa de SSV
C_S	concentração do substrato
C_X	concentração de microrganismos
cm	centímetro
d	dia
g	grama
h	hora
k'_0	constante cinética específica do modelo de ordem zero
k'_{ap}	constante cinética específica aparente do modelo de primeira ordem
K_S	constante de saturação do substrato
kg	quilograma
$L^{(1)}$	litro
$L^{(2)}$	unidade de volume
m	metro
$M_{células}$	unidade de massa de células
$M_{substrato}$	unidade de massa de substrato
mg	miligrama
mL	mililitro
mm	milímetro
mM	milimolar
mV	milivolt
μ	velocidade específica de crescimento celular
μm	micrômetro
μ_{max}	velocidade máxima específica de crescimento celular
N-NH_4^+	nitrogênio na forma de nitrogênio amoniacal
N-NO_x^-	nitrogênio na forma de nitrato ou nitrito
N-NTK	nitrogênio na forma de NTK
NO_x^-	nitrato ou nitrito
$\text{NO}_x^-/\text{S}^{2-}$	relação nitrato/sulfeto ou nitrito/sulfeto

R^2	coeficiente de determinação
r'_{\max}	velocidade máxima específica de consumo de substrato
r_{\max}	velocidade máxima de consumo de substrato
r'_S	velocidade específica de consumo de substrato
r_S	velocidade de consumo de substrato
r_X	velocidade de crescimento celular
rpm	rotações por minuto
$S-S^{2-}$	enxofre na forma de sulfeto
$S-SO_4^{2-}$	enxofre na forma de sulfato
T	unidade de tempo
t	tempo
t_0	tempo inicial
$Y_{X/S}$	fator de crescimento celular por unidade de massa de substrato

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	31
2 OBJETIVOS.....	33
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	35
3.1 Nitrogênio em águas residuárias.....	35
3.2 Nitrificação.....	36
3.3 Desnitrificação.....	38
3.4 Tecnologias modernas para remoção de nitrogênio de águas residuárias.....	39
3.5 Desnitrificação autotrófica com compostos reduzidos de enxofre.....	41
3.5.1 Desnitrificação autotrófica usando enxofre elementar como doador de elétrons.....	42
3.5.2 Desnitrificação autotrófica usando sulfeto como doador de elétrons.....	43
3.5.3 Desnitrificação autotrófica aplicada a esgoto sanitário.....	44
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	47
4.1 Estrutura do experimento.....	47
4.2 Primeira etapa.....	49
4.2.1 Reatores em batelada.....	49
4.2.2 Inóculo.....	50
4.2.3 Meio sintético.....	51
4.2.4 Operação.....	52
4.2.5 Análise cinética.....	54
4.2.6 Ensaios abióticos.....	55
4.2.7 Biologia molecular.....	55
4.3 Segunda etapa.....	56
4.3.1 Sistema de reatores contínuos em escala de bancada.....	56
4.3.2 Inóculo e material suporte.....	61
4.3.3 Água residuária.....	62
4.3.4 Operação.....	68
4.4 Terceira etapa.....	69
4.4.1 Dimensionamento do sistema em escala piloto.....	69
4.4.2 Montagem do sistema piloto.....	74
4.4.3 Auto-inoculação.....	82
4.4.4 Água residuária.....	82
4.4.5 Operação.....	83
4.4.6 Perfis temporais do esgoto sanitário real.....	85
4.5 Análises físico-químicas.....	86
4.6 Exames microscópicos.....	87

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	89
5.1 Primeira etapa	89
5.1.1 Monitoramento dos reatores em batelada	89
5.1.2 Perfis temporais e parâmetros cinéticos	99
5.1.3 Ensaios abióticos	107
5.1.4 Análise morfológica da comunidade microbiana	109
5.1.5 Análise filogenética da comunidade microbiana	111
5.2 Segunda etapa	115
5.2.1 Monitoramento dos reatores auxiliares	115
5.2.2 Monitoramento do reator desnitrificante	116
5.2.3 Análise morfológica da comunidade microbiana	123
5.3 Terceira etapa	125
5.3.1 Caracterização do esgoto sanitário real	125
5.3.2 Auto-inoculação, adaptação e controle do sistema	127
5.3.3 Monitoramento do compartimento inferior de RA	131
5.3.4 Monitoramento de RB	137
5.3.5 Monitoramento do compartimento superior de RA	140
5.3.6 Perfis espaciais e temporais	145
5.3.7 Estudo da composição do biogás	151
5.3.8 Considerações sobre a natureza do sistema piloto, dificuldades inerentes à sua operação e resultados obtidos	153
6 CONCLUSÕES	157
7 SUGESTÕES	159
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	161

“O começo de todas as ciências é o espanto de as coisas serem o que são”

Aristóteles (384 a.C.-322 a.C.)

1 INTRODUÇÃO

O tratamento de esgoto sanitário representa um grande desafio atualmente, visto que o crescimento populacional intenso, notadamente em países em desenvolvimento como o Brasil, não é acompanhado pelas obras de infra-estrutura necessárias, em especial as de saneamento. Como consequência, estabelece-se uma situação de precariedade em relação à saúde da população e à conservação ambiental. No Brasil, a Pesquisa Nacional de Saneamento Básico de 2008 mostrou que somente 55,2% dos municípios brasileiros possuem rede coletora de esgotos sanitários, e apenas 28,5% realizam algum tipo de tratamento do esgoto coletado (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE), 2010). Desta forma, é de extrema importância o desenvolvimento de tecnologias eficientes e econômicas que viabilizem a aplicação de sistemas de tratamento de forma ampla e satisfatória para a melhoria das condições de saneamento.

A aplicação de reatores anaeróbios como unidades principais de tratamento tem se mostrado economicamente vantajosa para a remoção de matéria orgânica de esgoto sanitário, inclusive no Brasil. Entretanto, a legislação tem se tornado cada vez mais restritiva com relação ao lançamento de nutrientes em corpos receptores, particularmente compostos de nitrogênio, devido aos danos à saúde humana e aos impactos ambientais que causam. Visto que os sistemas anaeróbios mais comumente aplicados, como os reatores UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*), não são capazes de remover estes compostos, faz-se necessária a adoção de unidades de pós-tratamento de seus efluentes.

O método convencional de remoção biológica de nitrogênio de águas residuárias consiste na nitrificação autotrófica seguida da desnitrificação heterotrófica. A desnitrificação heterotrófica demanda a presença de um doador de elétrons orgânico, que pode ser proveniente de fonte endógena ou exógena. Sistemas aeróbios apresentam tecnologias consolidadas e eficientes para remoção de nitrogênio com uso de fontes orgânicas endógenas de doadores de elétrons, como o Bardenpho (*Barnard Denitrification Phosphorus removal*),

que as aplicam por meio de recirculações entre câmaras aeróbias e anóxicas. Porém, no caso de pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios, a fração de matéria orgânica presente neste tipo de efluente não é facilmente degradável, o que compromete seu uso como fonte endógena de doadores de elétrons em sistemas subsequentes. Por outro lado, a adição de fontes exógenas pode tornar o sistema economicamente inviável.

Desta forma, os métodos não-convencionais para remoção de nitrogênio de esgoto sanitário apresentam-se como alternativa para o caso de pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios. Entre eles, destaca-se a desnitrificação autotrófica usando sulfeto como doador de elétrons, que se mostra vantajosa por utilizar compostos comumente disponíveis neste tipo de efluente: nitrogênio amoniacal e sulfeto solúvel, além de sulfeto de hidrogênio presente no biogás.

A hipótese deste projeto de pesquisa é que é possível promover a desnitrificação autotrófica de parcelas nitrificadas de efluentes de reatores anaeróbios tratando esgoto sanitário, através da utilização de sulfeto presente no próprio efluente e no biogás. Desta forma, ao menos uma fração do nitrogênio existente nestes efluentes poderia ser removida apenas com doadores de elétrons endógenos, reduzindo custos de pós-tratamento.

A crescente demanda por processos de pós-tratamento dos efluentes de reatores anaeróbios tratando esgoto sanitário para atendimento à legislação indica que a grande maioria das estações de tratamento existentes terá de se adequar com o objetivo de remover compostos nitrogenados de seus efluentes. Este fato, aliado aos altos custos da adição de fontes exógenas de doadores de elétrons em sistemas de desnitrificação heterotrófica, justifica a pesquisa da desnitrificação autotrófica como alternativa viável. Pesquisas têm comprovado a viabilidade deste processo para diferentes tipos de águas residuárias; entretanto, há poucos trabalhos sobre sua aplicação para esgoto sanitário.

“Os passos não conduzem, apenas, a uma meta;
cada passo é já em si uma meta”

Alain (1868-1951)

2 OBJETIVOS

O objetivo principal deste projeto de pesquisa é a avaliação da desnitrificação autotrófica para remoção de nitrogênio de parcelas nitrificadas de efluentes de reatores anaeróbios tratando esgoto sanitário, usando como doador de elétrons o sulfeto presente no efluente e no biogás.

Os objetivos específicos da pesquisa são:

- Caracterização cinética e microbiológica da desnitrificação autotrófica usando sulfeto como doador de elétrons, com nitrato e nitrito como receptores de elétrons;
- Avaliação das proporções entre efluente nitrificado e não-nitrificado que resultam no melhor desempenho;
- Estudo da viabilidade e aplicabilidade do processo ao tratamento de esgoto sanitário;
- Desenvolvimento de configurações de reatores vantajosas à desnitrificação autotrófica;
- Verificação da ocorrência de outros processos de remoção de nitrogênio nos sistemas estudados.

“Só sabemos com exatidão quando sabemos pouco; à medida que vamos adquirindo conhecimentos, instala-se a dúvida”

Johann Wolfgang von Goethe (1749-1832)

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Nitrogênio em águas residuárias

Os compostos de nitrogênio são fundamentais para a existência da vida na Terra. São essenciais na síntese de compostos orgânicos, como proteínas, fazendo parte da constituição e metabolismo de todos os seres vivos. Devido à importância dos compostos nitrogenados no metabolismo de microrganismos, que os utilizam juntamente com compostos de fósforo como principais nutrientes, é de extrema relevância o estudo do ciclo do nitrogênio na natureza e a compreensão de suas diversas formas e transformações ao se visar pesquisas, projetos e operações de processos biológicos de tratamento de águas residuárias.

Os compostos nitrogenados estão presentes em águas residuárias domésticas, industriais e escoamentos agrícolas e, quando lançados em corpos receptores, causam diversos inconvenientes. Altas concentrações de nitrogênio amoniacal são tóxicas a peixes e causam a depleção do oxigênio dissolvido, devido à nitrificação que ocorre naturalmente nos corpos receptores. A presença de nitritos aumenta a dosagem de cloro e, portanto, os custos de desinfecção, e concentrações de nitrato acima de certos limites são fatais a crianças (METCALF & EDDY, 2003). Entretanto, o fenômeno da eutrofização é o que atualmente causa maior preocupação, devido à importância de compostos nitrogenados como nutrientes para o florescimento de algas em lagos e reservatórios, causando possivelmente altos níveis de toxicidade, ausência de oxigênio em águas profundas ou em determinadas regiões do corpo de água, perda de qualidades estéticas, aumento dos custos de tratamento, intensa morte de peixes e consequências à saúde humana (TUNDISI; MATSUMURA-TUNDISI, 1992).

A legislação tem se tornado restritiva mundialmente com relação ao lançamento de compostos de nitrogênio em corpos receptores e, portanto, atenção especial tem sido dada a processos eficientes e economicamente viáveis para remoção destes compostos, visando,

principalmente, a proteção dos corpos receptores, o controle da eutrofização e o controle de nitrogênio em águas de reuso, incluindo-se as destinadas a recargas de aquíferos (METCALF & EDDY, 2003). Existem alternativas físico-químicas para a remoção de nitrogênio de águas residuárias; entretanto, os processos biológicos predominam devido ao custo mais baixo e alta eficiência.

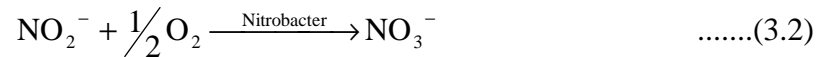
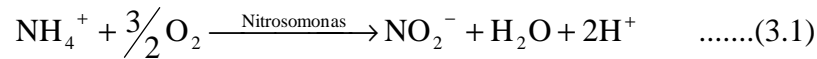
No Brasil, a Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) n° 357/2005 estabelece que, para corpos receptores de água doce, a concentração máxima permitida de nitrogênio amoniacal total é de 3,7 mg N.L⁻¹ para as Classes I e II, e de 13,3 mg N.L⁻¹ para as Classes III e IV, desde que o pH seja menor ou igual a 7,5. No que concerne os compostos oxidados de nitrogênio, a resolução estabelece para as Classes I a IV concentrações máximas permitidas de 1,0 e 10,0 mg N.L⁻¹, para nitrito e nitrato, respectivamente. Já os padrões de lançamento de efluentes, regulamentados pela mesma resolução, limitam a concentração de nitrogênio amoniacal total em 20 mg N.L⁻¹ nos despejos, enquanto não apresentam restrições referentes a nitrito e nitrato (BRASIL, 2005).

3.2 Nitrificação

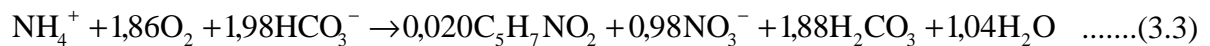
A nitrificação é o processo biológico aeróbio que converte nitrogênio amoniacal (NH₃ ou NH₄⁺) às formas oxidadas de nitrito (NO₂⁻) e nitrato (NO₃⁻). Os microrganismos envolvidos na nitrificação podem ser autotróficos ou heterotróficos, mas a nitrificação autotrófica é considerada mais significativa (GRADY; LIM, 1980).

O processo de nitrificação pode ser dividido em duas etapas: a conversão de nitrogênio amoniacal a nitrito, denominada nitritação, e a conversão de nitrito a nitrato, denominada nitratação. Estas etapas são realizadas por grupos de microrganismos bastante específicos, e normalmente são associadas às bactérias autotróficas dos gêneros *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*, para nitritação e nitratação, respectivamente. A oxidação de nitrogênio amoniacal a nitrito por *Nitrosomonas* ocorre em diversas etapas, sendo que a rota completa ainda é desconhecida. Já a oxidação de nitrito a nitrato por *Nitrobacter* ocorre em etapa única.

Segundo Henze et al. (1997), as conversões realizadas por estas bactérias são representadas pelas equações (3.1) e (3.2).



Ainda segundo os autores, a equação geral que contabiliza alcalinidade, produção celular (em que $\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2$ representa a composição das células) e consumo de oxigênio na nitrificação é representada pela equação (3.3):



A equação (3.3) mostra que a nitrificação consome alcalinidade. Uma pequena parte é incorporada no material celular, mas a maioria é usada para neutralizar os íons hidrogênio liberados durante a oxidação. Portanto, no processo deve ser fornecida alcalinidade suficiente para impedir quedas de pH.

A temperatura e o pH exercem grande influência na atividade das bactérias nitrificantes. Assim como ocorre com grande parte das bactérias, as nitrificantes são bastante sensíveis a mudanças bruscas de temperatura, e a faixa ótima situa-se entre 30 e 35 °C (HENZE et al., 1997). Com relação ao pH, a faixa ótima para a nitrificação situa-se entre 7,5 e 8,0, sendo que as velocidades de nitrificação diminuem significativamente em valores de pH abaixo de 6,8. Por esta razão, é importante fornecer alcalinidade ao processo para impedir a ocorrência de valores de pH baixos e consequente inibição dos microrganismos nitrificantes (METCALF & EDDY, 2003).

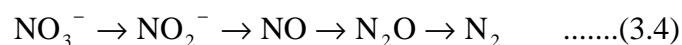
A coexistência de bactérias autotróficas nitrificantes e microrganismos heterotróficos no sistema não inibe a nitrificação diretamente, sendo que apenas causa efeitos indiretos como consumo do oxigênio dissolvido e alteração de pH. Não ocorrem problemas quanto a este aspecto contanto que sejam mantidas condições ideais para a nitrificação (GRADY; LIM, 1980).

3.3 Desnitrificação

A desnitrificação é o processo biológico no qual as formas oxidadas de nitrogênio – nitrito e nitrato – são convertidas a formas mais reduzidas, como óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N₂O) e principalmente nitrogênio molecular (N₂). É realizada por microrganismos facultativos autotróficos e heterotróficos, que utilizam nitritos e nitratos como receptores de elétrons em ambiente anóxico, através da chamada respiração anaeróbia.

O processo de desnitrificação é a forma efetiva de remoção de compostos nitrogenados que foram previamente oxidados em etapas de nitrificação. Para a redução destes compostos oxidados, são necessários doadores de elétrons, que podem ser de origem orgânica ou inorgânica, caracterizando a desnitrificação como heterotrófica e autotrófica, respectivamente. A desnitrificação heterotrófica é mais largamente empregada em processos de tratamento de águas residuárias, e demanda a presença de fontes de carbono de origem orgânica, que podem ser provenientes da própria água residuária e do lodo (fontes endógenas) ou adicionadas externamente (fontes exógenas) (HENZE et al., 1997). A desnitrificação autotrófica, entretanto, tem despertado a atenção dos pesquisadores, e utiliza como doadores de elétrons gás hidrogênio ou compostos reduzidos de enxofre (RITTMANN; MCCARTY, 2001).

Segundo Grady e Lim (1980), as etapas da redução de nitrato são dadas pela equação (3.4).



Os três produtos gasosos finais – NO, N₂O e N₂ – podem ser gerados na desnitrificação. Entretanto, a produção de N₂ predomina normalmente, exceto em casos em que o processo encontra-se desestabilizado, o que é indesejável devido ao caráter inconveniente ou tóxico dos compostos intermediários (HENZE et al., 1997).

Culturas desnitrificantes heterotróficas são relativamente fáceis de serem obtidas, pois é grande o número de gêneros de bactérias associadas à desnitrificação em águas residuárias, incluindo: *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Proteus* e *Pseudomonas* (GRADY; LIM, 1980).

Para cada 14 g de nitrogênio reduzido, produz-se 50 g de alcalinidade como CaCO₃ na desnitrificação heterotrófica, ao contrário da nitrificação, que consome alcalinidade. Dessa

forma, a desnitrificação heterotrófica recupera aproximadamente metade da alcalinidade consumida na etapa de nitrificação (METCALF & EDDY, 2003). A geração de alcalinidade pode ser representada pela equação (3.5).



Com relação aos doadores de elétrons para a desnitrificação heterotrófica, embora seja possível fornecer fontes de carbono provenientes do próprio afluente ou do lodo – através do decaimento endógeno – em alguns sistemas, a prática mais empregada é a adição de compostos orgânicos externos. Entre os vários compostos possíveis, buscam-se aqueles com menores coeficientes de produção celular, visando baixa produção de lodo. Esta característica é observada em compostos orgânicos com somente um átomo de carbono, como metano e metanol. A praticidade do uso de metano é questionável, o que torna o metanol o composto mais empregado (GRADY; LIM, 1980).

O processo de desnitrificação sofre influência da temperatura e pH de forma semelhante a outros processos biológicos e, portanto, estes parâmetros devem ser mantidos em faixas adequadas. Além disso, baixas concentrações de oxigênio dissolvido são desejáveis, visto que a presença de oxigênio acima de certos limites pode causar a inibição do processo. Esta condição é relativa, entretanto, pois em sistemas com flocos ou biofilmes a ocorrência da desnitrificação pode se dar mesmo com a presença de certas concentrações de oxigênio dissolvido, devido ao gradiente de concentrações entre o meio líquido e o interior dos flocos ou biofilme (METCALF & EDDY, 2003).

3.4 Tecnologias modernas para remoção de nitrogênio de águas residuárias

Embora a técnica mais empregada para remoção de nitrogênio de águas residuárias seja a nitrificação seguida de desnitrificação heterotrófica – o denominado processo convencional – existem algumas desvantagens para sistemas que a adotam, principalmente no que diz respeito ao alto consumo de oxigênio, necessidade de adição de doadores de elétrons orgânicos e geração considerável de lodo, implicando em altos custos. Para contornar estes inconvenientes, uma alternativa é a utilização de processos autotróficos de remoção de

nitrogênio, que contribuem para a redução nos custos finais de tratamento devido à menor geração de lodo, não-utilização de fontes exógenas de carbono e economia de oxigênio dissolvido, em alguns casos.

A maioria das novas tecnologias para remoção autotrófica de nitrogênio de águas residuárias baseia-se no processo ANAMMOX (*Anaerobic Ammonium Oxidation*), que consiste na oxidação anaeróbia de nitrogênio amoniacal a nitrogênio gasoso utilizando-se nitrito como receptor de elétrons (MULDER et al., 1995; STROUS et al., 1997; JETTEN et al., 1999; SCHMIDT et al., 2003). Entre elas, está a combinação do processo ANAMMOX com o processo SHARON (*Single-reactor High-Activity Ammonium Removal Over Nitrite*), que se constitui na operação de reator favorecendo a predominância de bactérias nitritantes sobre bactérias nitratantes através de aumento da temperatura do sistema, gerando o acúmulo de nitrito (HELLINGA et al., 1998). Foram propostos também o processo CANON (*Complete Autotrophic Nitrogen-removal Over Nitrite*) e o OLAND (*Oxygen-Limited Autotrophic Nitrification-Denitrification*), que se baseiam na interação entre dois grupos de microrganismos autotróficos: os nitrificantes aeróbios e os oxidantes de amônia anaeróbios, em ambiente com condições limitadas de oxigênio (VERSTRAETE; PHILIPS, 1998; KUAI; VERSTRAETE, 1998; PYNAERT et al., 2002; KHIN; ANNACHHATRE, 2004). Todos estes processos necessitam, entretanto, de água residuária específica, com alta concentração de nitrogênio amoniacal, e alto controle operacional dos sistemas.

Para outros tipos de águas residuárias, como esgoto sanitário, uma forma mais aplicável de remoção de nitrogênio é a utilização da desnitrificação autotrófica usando compostos reduzidos de enxofre como doadores de elétrons, que vem sendo pesquisada atualmente (KOENIG; LIU, 2001; KLEEREBEZEM; MENDEZ, 2002; REYES-AVILA et al., 2004; BERISTAIN-CARDOSO et al., 2006; SIERRA-ALVAREZ et al., 2007). A combinação deste tipo de desnitrificação com o processo ANAMMOX foi denominada DEAMOX (*Denitrifying Ammonium Oxidation*), e consiste no uso de sulfeto como doador de elétrons para redução de nitrato a nitrito, que é então aplicado no processo ANAMMOX para conversão a nitrogênio gasoso (KALYUZHNYI et al., 2006).

3.5 Desnitrificação autotrófica com compostos reduzidos de enxofre

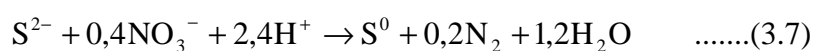
Os ciclos do nitrogênio e do enxofre podem interagir de diversas formas (FDZ-POLANCO et al., 2001). Uma destas interações, de particular importância para a remoção de nitrogênio de águas residuárias, ocorre através da ação de microrganismos quimiolitotróficos capazes de promover a desnitrificação utilizando compostos oxidados de nitrogênio como receptores de elétrons e compostos inorgânicos reduzidos de enxofre como doadores de elétrons. Entre estes compostos estão o sulfeto (S^{2-}), enxofre elementar (S^0), tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$) e sulfito (SO_3^{2-}) (BERISTAIN-CARDOSO et al., 2006). Este processo alternativo de desnitrificação apresenta como principais vantagens, em relação à desnitrificação heterotrófica, a menor produção de lodo, necessidade de controle menos rígido de dosagem de doadores de elétrons, e doadores de elétrons mais baratos que materiais orgânicos como metanol ou etanol (KIM et al., 2003). Além disso, os doadores de elétrons podem ser provenientes da própria água residuária, como é o caso de efluentes contendo sulfeto em sua composição.

As bactérias desnitrificantes das espécies *Thiobacillus denitrificans* e *Thiomicrospira denitrificans* são normalmente associadas ao processo (SIERRA-ALVAREZ et al., 2007). Estas espécies são autotróficas obrigatórias, e podem oxidar compostos de enxofre em condições aeróbias e anóxicas (BERISTAIN-CARDOSO et al., 2006).

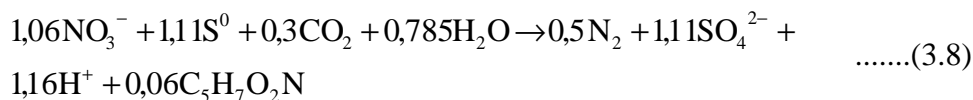
Segundo Reyes-Avila et al. (2004), a equação (3.6) representa a desnitrificação através da oxidação de sulfeto a sulfato, usando nitrato como receptor de elétrons.



Entretanto, a oxidação de sulfeto pode levar à formação de enxofre elementar dependendo de condições fisiológicas (BERISTAIN-CARDOSO et al., 2006), segundo a equação (3.7).

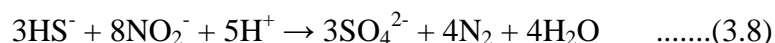


E, finalmente, Koenig e Liu (2001) propõem a equação (3.8), considerando-se desnitrificação com oxidação de enxofre elementar a sulfato, e composição das células como $C_5H_7O_2N$.



As equações apresentadas demonstram que, para os casos de desnitrificação com oxidação completa, de sulfeto a sulfato, ou parcial, de sulfeto a enxofre elementar, há geração de alcalinidade. Já para o caso de oxidação de enxofre elementar a sulfato, há consumo de alcalinidade.

A desnitrificação autotrófica pode também ser aplicada usando-se nitrito como receptor de elétrons. No caso de sulfeto como doador de elétrons e oxidação completa a sulfato, a reação ocorre de acordo com a equação (3.9), segundo Mahmood et al. (2007).



Beristain-Cardoso et al. (2006) realizaram ensaios em batelada com o intuito de determinar, dentre sulfeto, tiosulfato e enxofre elementar, qual resultaria em maior velocidade de desnitrificação para concentração constante e estequiométrica de nitrato. Os autores concluíram que o doador de elétrons mais rapidamente utilizado foi tiosulfato, seguido de sulfeto e enxofre elementar. Isto ocorre devido à maior bio-disponibilidade do tiosulfato. Apesar do sulfeto também ser bio-disponível, apresenta efeitos inibitórios a partir de certas concentrações. As velocidades mais baixas de desnitrificação observadas ocorreram para ensaios com enxofre elementar, pois é um mineral insolúvel e apolar e, portanto, espera-se que a transferência de massa seja o fator limitante neste caso.

3.5.1 Desnitrificação autotrófica usando enxofre elementar como doador de elétrons

Sistemas de desnitrificação autotrófica utilizando leito fixo de enxofre elementar têm sido intensamente pesquisados, objetivando-se remoção de nitrato de águas subterrâneas contaminadas por escoamentos agrícolas. A desnitrificação autotrófica apresenta vantagens

bastante evidentes neste caso, pois como se trata de água para abastecimento, não se pode permitir a presença de residuais orgânicos ou contaminação bacteriológica excessiva, característicos da desnitrificação heterotrófica (SIERRA-ALVAREZ et al., 2007). Como a oxidação de enxofre elementar a sulfato gera grande demanda de alcalinidade na desnitrificação, têm sido utilizados sistemas com leito fixo de enxofre elementar juntamente com leitos de calcário para fornecimento de alcalinidade e carbono inorgânico, constituindo os sistemas SLAD (*Sulfur-Limestone Autotrophic Denitrification*) (FLERE; ZHANG, 1999). Nestes sistemas, a granulometria e área superficial específica do leito de enxofre elementar são muito importantes, pois governam os fenômenos de transferência de massa, que são limitantes ao processo, e a cinética de degradação do substrato na superfície do biofilme formado nas partículas é de ordem meio (KOENIG; LIU, 2001; DARBI; VIRARAGHAVAN, 2003). Outra aplicação do mesmo processo é a construção de barreiras reativas contendo leito de enxofre elementar e calcário para tratamento *in situ* de águas subterrâneas contaminadas com nitrato (MOON et al., 2004).

3.5.2 Desnitrificação autotrófica usando sulfeto como doador de elétrons

Uma alternativa interessante é utilizar sulfetos ($S^{2-}/HS^-/H_2S$) presentes em águas residuárias ou produzidos no processo de tratamento para promover a desnitrificação, reduzindo assim as concentrações de nitrato e convertendo sulfetos em formas menos inconvenientes ao sistema de tratamento. Esta alternativa foi aplicada para efluentes de indústrias petroquímicas, que apresentam altas concentrações de compostos orgânicos, nitrogênio amoniacal e sulfetos, e mostrou-se viável (REYES-AVILA et al., 2004; VAIOPOULOU et al., 2005). Kleerebezem e Mendez (2002) verificaram a viabilidade de se utilizar o gás sulfídrico produzido em etapa anaeróbia do tratamento de efluentes de indústria de processamento de peixes – ricos em compostos orgânicos, nitrogênio amoniacal e orgânico, e sulfato – na etapa de desnitrificação, e obtiveram capacidade volumétrica moderada de tratamento ($<1 \text{ g N-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) pois, apesar do balanço de massa indicar quantidade suficiente de sulfeto de hidrogênio para a desnitrificação, ocorreu acúmulo de enxofre elementar no sistema, prejudicando o processo.

Beristain-Cardoso et al. (2006) realizaram ensaios variando-se concentrações de nitrato e sulfeto, e também adicionando pequena quantidade de acetato. Mantendo-se a

concentração fixa de sulfeto de 2,5 mM S^{2-} , variaram a concentração de nitrato nos níveis de 0, 1, 4 e 16 mM $N-NO_3^-$, sendo a concentração estequiométrica de 4 mM $N-NO_3^-$, correspondente à relação molar NO_3^-/S^{2-} de 1,6, de acordo com a equação (3.6). Observaram que a relação NO_3^-/S^{2-} determinou os produtos finais: para concentração estequiométrica ou em excesso de nitrato (relação molar NO_3^-/S^{2-} maior ou igual a 1,6), foi formado sulfato; entretanto, quando a concentração de nitrato foi limitante (relação molar NO_3^-/S^{2-} menor que 1,6), observaram a formação de enxofre elementar. Mantendo-se a concentração de nitrato fixa em 8 mM $N-NO_3^-$, variaram a concentração de sulfeto em 2,5; 5; 7,5 e 10 mM S^{2-} , sendo a concentração estequiométrica de 5 mM S^{2-} , para estudo dos efeitos inibitórios do sulfeto no processo. Neste caso, os autores observaram altas velocidades de desnitrificação para concentrações de 2,5 e 5 mM S^{2-} , velocidades menores para 7,5 mM S^{2-} e baixíssimas para 10 mM S^{2-} , o que demonstra a inibição do processo a altas concentrações de sulfeto, verificado principalmente na redução de nitrato a nitrito.

A adição de pequena quantidade de acetato, 0,5 mM, em ensaio de Beristain-Cardoso et al. (2006), com concentrações de nitrato e sulfeto de 10 e 2,5 mM, respectivamente, demonstraram aumento de velocidades de desnitrificação de até 25%. Reyes-Avila et al. (2004) observaram formação de enxofre elementar na presença de acetato, e baixo consumo de matéria orgânica quando houve alta carga de sulfeto. Poucas evidências existem, entretanto, sobre a influência da matéria orgânica na desnitrificação autotrófica (REYES-AVILA et al., 2004).

3.5.3 Desnitrificação autotrófica aplicada a esgoto sanitário

Apesar de não existirem muitos estudos a respeito, a aplicação da desnitrificação autotrófica é promissora no tratamento de esgotos sanitários. As interações entre os ciclos do nitrogênio e do enxofre possibilitam a remoção destes dois compostos, em particular para o caso de efluentes de reatores anaeróbios, que contêm nitrogênio amoniacal, sulfetos e quantidade reduzida de matéria orgânica, além de biogás rico em sulfeto de hidrogênio, que também pode ser aplicado ao processo (FORESTI et al., 2006). Esta alternativa é particularmente interessante, visto que a aplicação de tecnologias anaeróbias como processo principal de tratamento de esgoto sanitário tem se difundido, e existe a necessidade de pós-

tratamento de efluentes provenientes de reatores anaeróbios para remoção de nitrogênio, visando ao atendimento de padrões de emissão impostos pela legislação.

Embora a desnitrificação autotrófica usando compostos reduzidos de enxofre para tratamento de águas subterrâneas contaminadas com nitrato tenha se mostrado eficiente e viável, a aplicação para esgoto sanitário demanda investigações mais profundas, devido à maior complexidade deste tipo de água residuária, que apresenta diversos tipos de compostos possivelmente interferentes no processo.

Garbossa (2006) utilizou reator misto radial de leito fixo (RMRLF) e reator aeróbio-anaeróbio horizontal de leito fixo (RAAHLF) para pós-tratamento de efluente de reator UASB. Alimentou os reatores com biogás proveniente do reator UASB, e verificou ocorrência de desnitrificação com produção de sulfato, o que comprova a potencialidade da utilização do sulfeto solúvel conjuntamente com o sulfeto de hidrogênio presente no biogás como doadores de elétrons.

Para a aplicação da tecnologia, entretanto, são necessários estudos adicionais a respeito das condições ambientais favoráveis à ocorrência da desnitrificação autotrófica, entre elas pH, alcalinidade, potencial de óxido-redução e presença de micronutrientes. Além disso, é importante a determinação dos compostos possivelmente interferentes presentes em esgoto sanitário, como a matéria orgânica, bem como sua influência no processo.

“Há três métodos para ganhar sabedoria: primeiro, por reflexão, que é o mais nobre; segundo, por imitação, que é o mais fácil; e terceiro, por experiência, que é o mais amargo”

Confúcio (551 a.C.-479 a.C)

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Estrutura do experimento

O projeto de pesquisa foi dividido em três etapas experimentais, sendo a primeira exploratória, a segunda para estudo de viabilidade e a terceira para estudo de aplicabilidade. A estrutura experimental adotada pode ser visualizada no esquema apresentado na Figura 4.1.

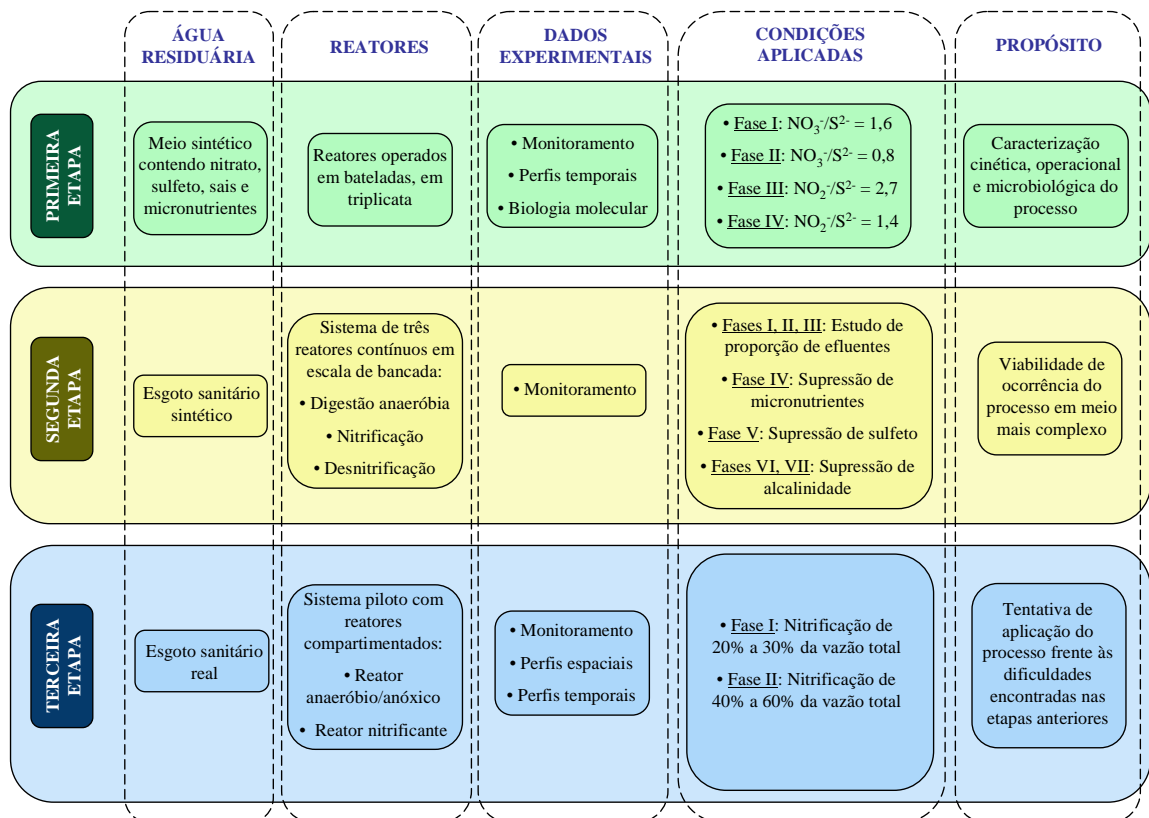


Figura 4.1 – Esquema da estrutura experimental da pesquisa.

O objetivo da primeira etapa da pesquisa foi o estudo exploratório das características cinéticas, operacionais e microbiológicas do processo de desnitrificação autotrófica. Nesta etapa foram realizados ensaios em frascos operados em bateladas, inoculados com lodo desnitrificante heterotrófico (item 4.2.2), fragmentado e em suspensão, e alimentados com meio sintético contendo nitrato/nitrito e sulfeto, com o intuito de se enriquecer cultura desnitrificante autotrófica para obtenção de dados operacionais e microbiológicos do processo, assim como parâmetros cinéticos de consumo dos compostos de interesse.

A segunda etapa do trabalho visou à determinação da viabilidade de ocorrência do processo de desnitrificação autotrófica usando sulfeto como doador de elétrons em reatores tratando água residuária de maior complexidade que a utilizada na primeira etapa. Para isto, foi operado sistema consistindo de três reatores em escala de bancada, simulando unidades típicas de estações capazes de promover tratamento secundário e terciário: reator anaeróbio, reator aeróbio nitrificante e reator anóxico desnitrificante. Os estudos focalizaram-se no reator desnitrificante, alimentado com proporções variáveis de efluente nitrificado (proveniente do reator aeróbio nitrificante) e não-nitrificado (proveniente do reator anaeróbio), e mantido sob condições autotróficas, dada a baixa presença de matéria orgânica nesta composição de efluentes. Neste reator foram estudadas condições operacionais como pH, alcalinidade e presença de sulfeto e micronutrientes, assim como a melhor proporção entre efluente nitrificado e não-nitrificado para máxima remoção de compostos nitrogenados. A água residuária utilizada nesta etapa foi esgoto sanitário sintético, que apresenta frações orgânicas de fácil e difícil degradação, assim como compostos que proporcionam maior complexidade ao tratamento, como celulose, óleo de cozinha e detergente. Este aumento de complexidade teve por objetivo a verificação da ocorrência da desnitrificação autotrófica nestas condições, visto que a aplicação ao tratamento de esgotos sanitários requer processos resistentes à grande diversidade de compostos presentes neste tipo de água residuária.

A terceira etapa da pesquisa teve por objetivo a aplicação do processo de desnitrificação autotrófica ao pós-tratamento de reatores anaeróbios utilizados no tratamento de esgoto sanitário real, levando-se em consideração o conhecimento adquirido nas etapas anteriores, assim como os problemas levantados. Para isto, foi operado sistema de reatores em escala piloto. A escala piloto foi escolhida por proporcionar melhor abordagem comportamental do processo em estudo, caso venha a ser aplicado a sistemas de tratamento reais. Nas etapas anteriores foi verificada a perda de sulfeto nas transferências de vazão entre os reatores. O sistema proposto para a terceira etapa levou em consideração a necessidade de minimizar, tanto quanto possível, as perdas de sulfeto. A solução proposta foi a construção de

um sistema composto apenas por dois reatores de fluxo ascendente: um reator compartimentado anaeróbio/anóxico para remoção da matéria orgânica e desnitrificação, e um reator aeróbio nitrificante. Este sistema possibilitaria o aproveitamento total do sulfeto gerado no compartimento anaeróbio como doador de elétrons para a desnitrificação, e favoreceria também a utilização de outras fontes alternativas de doadores de elétrons.

4.2 Primeira etapa

4.2.1 Reatores em batelada

Os experimentos realizados na primeira etapa do trabalho foram conduzidos em triplicata, utilizando-se, como reatores, três frascos de Duran de 1 L cada, vedados com septo emborrachado (Figura 4.2). O volume reacional de cada frasco foi de 700 mL, e os frascos foram mantidos sob agitação constante de 150 rpm a 30°C em câmaras agitadoras.



Figura 4.2 – Reatores utilizados na primeira etapa da pesquisa.

4.2.2 Inóculo

O inóculo usado na primeira etapa do trabalho foi lodo desnitrificante heterotrófico proveniente de reator UASB empregado no tratamento de água residuária da Avícola Dacar, localizada na cidade de Tietê (SP).

Este lodo apresenta grande diversidade de microrganismos (HIRASAWA et al., 2008) e, embora seja predominantemente heterotrófico, admitiu-se como hipótese a possibilidade da presença dos microrganismos autotróficos responsáveis pelo processo de desnitrificação autotrófica, ainda que inicialmente em condições desfavoráveis. Desta forma, primou-se por estabelecer uma comunidade autotrófica a partir de lodo predominantemente heterotrófico, provendo as condições necessárias para seu desenvolvimento.

O lodo em questão apresentava-se inicialmente na forma granulada, e foi fragmentado em liquidificador para inoculação dos reatores (Figura 4.3). Este procedimento foi adotado porque, embora o grânulo seja uma estrutura microbiana eficiente em reatores UASB empregados no tratamento secundário de águas residuárias, não favoreceria o enriquecimento da comunidade autotrófica responsável pelo processo em estudo.

Cada um dos três frascos foi inoculado com aproximadamente 100 mL do lodo fragmentado, que continha em torno de 40 gSVT.L⁻¹, e a operação dos reatores foi realizada com a biomassa em suspensão.



Figura 4.3 – Aspecto do lodo de inóculo após fragmentação dos grânulos.

4.2.3 Meio sintético

Os reatores estudados na primeira etapa foram alimentados com água residuária sintética simulando efluente sanitário nitrificado, similar ao proposto por Callado e Foresti (2000). Este efluente foi escolhido por apresentar parâmetros físico-químicos semelhantes aos encontrados em sistemas de pós-tratamento de esgoto sanitário, permitindo a avaliação do processo de desnitrificação autotrófica nas faixas de concentração usualmente encontradas para este tipo de água residuária.

Entretanto, algumas modificações foram feitas neste efluente, com o intuito de prover melhores condições ao desenvolvimento dos microrganismos de interesse: a uréia (CON_2H_4) originalmente presente, por ser um composto orgânico, foi substituída por cloreto de amônio (NH_4Cl) para manter o caráter inorgânico do efluente, mas preservando a mesma concentração de nitrogênio; foi retirado o sulfato de sódio (Na_2SO_4) que, embora em baixas concentrações, era previsto inicialmente; e a concentração de bicarbonato de sódio foi elevada para 2 g.L^{-1} para maior fornecimento de carbono inorgânico. Este último procedimento foi adotado também por Beristain-Cardoso et al. (2006). Os componentes deste efluente estão listados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Componentes do efluente sintético utilizado para a alimentação dos reatores na primeira etapa.

Componente	Concentração (mg.L^{-1})
KNO_3 ou NaNO_2	144 ou 99
KH_2PO_4	36
NH_4Cl	16
NaHCO_3	2000
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	28
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	18

Foram testados como receptores de elétrons nitrato (NO_3^-) e nitrito (NO_2^-), que foram suplementados na forma de nitrato de potássio (KNO_3) e nitrito de sódio (NaNO_2). Em ambas as condições, as concentrações destes compostos foram calculadas visando a obtenção da concentração de 20 mg N.L^{-1} , prevista na formulação do efluente sintético.

A suplementação de sulfeto ($\text{S}^{2-}/\text{HS}^-/\text{H}_2\text{S}$) como doador de elétrons foi realizada através de solução de sulfeto de sódio nonahidratado ($\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$). As concentrações de sulfeto foram dosadas visando à obtenção de duas relações molares $\text{NO}_x^-/\text{S}^{2-}$. Para nitrato

como receptor de elétrons, inicialmente foi aplicada a relação estequiométrica $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ de 1,6 (fase I), correspondente a aproximadamente $30 \text{ mg S}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, e posteriormente dobrou-se a concentração de sulfeto para $60 \text{ mg S}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, resultando na relação $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ aproximada de 0,8 (fase II). Já para nitrito como receptor de elétrons, inicialmente foi aplicada a relação estequiométrica $\text{NO}_2^-/\text{S}^{2-}$ de 2,7 (fase III), correspondente a $17 \text{ mg S}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, e posteriormente a relação $\text{NO}_2^-/\text{S}^{2-}$ de 1,4 (fase IV), correspondente a $34 \text{ mg S}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$.

Na alimentação dos reatores era também adicionada solução de micronutrientes proposta por Beristain-Cardoso et al. (2006), específica para o desenvolvimento dos microrganismos de interesse. A concentração final de micronutrientes no efluente sintético está apresentada na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 – Concentração de micronutrientes proposta por Beristain-Cardoso et al. (2006).

Componente	Concentração ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
EDTA	1,000
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,080
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,140
MnCl_2	0,060
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,020
$\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,040
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,040

4.2.4 Operação

Na primeira etapa, os reatores foram operados em ciclos de 24 horas, período considerado suficiente para a ocorrência do processo nas faixas de concentração estudadas, segundo ensaios realizados por Garbossa (2006). A alimentação dos reatores era realizada no início de cada ciclo; entretanto, a operação não pode ser caracterizada como em bateladas sequenciais convencionais, já que a troca do meio reacional não ocorria diariamente.

A escolha deste procedimento operacional pouco convencional deveu-se à impossibilidade prática de se manter a biomassa em suspensão em quantidade viável em longo prazo no experimento, caso a troca do meio reacional fosse diária. Desta forma, optou-se por trocar o meio duas vezes por semana, retirando-se, nestes eventos, o sobrenadante dos frascos após período de sedimentação. Nos outros dias, o reator era somente alimentado com

sulfeto, nitrato (ou nitrito) e bicarbonato, nas concentrações mencionadas. Portanto, enquanto o mesmo meio nutricional permanecia nos reatores por mais de um ciclo, os substratos essenciais para o metabolismo energético dos microrganismos eram adicionados diariamente, já que seu consumo total, em períodos de estabilidade, era também diário.

Embora o procedimento adotado apresentasse como desvantagem o possível acúmulo de produtos no meio reacional ao longo de ciclos sucessivos, foi favorável à manutenção, em longo prazo, do processo estudado e ao enriquecimento da biomassa. Além disso, não representou problemas à estabilidade dos reatores e à obtenção de parâmetros cinéticos.

A troca do meio reacional era iniciada com o repouso dos reatores por aproximadamente 20 minutos, para sedimentação da biomassa em suspensão. Após este período, o sobrenadante era retirado com o auxílio de um sifão, tomando-se o cuidado de não arrastar a biomassa sedimentada. Novo meio era adicionado até a marca de 700 mL dos reatores e, então, era fluxionada mistura gasosa de N_2/CO_2 na proporção de 70:30% no líquido. O fluxionamento tinha como funções a eliminação do oxigênio presente nos reatores, fornecimento adicional de fonte inorgânica de carbono para os microrganismos autotróficos e, em especial, o controle do pH para valores em torno de 7,0 a 7,5, visto que a adição de $Na_2S \cdot 9H_2O$ elevava sobremaneira o pH do meio sintético preparado.

Após este procedimento, os frascos eram vedados com o septo emborrachado e só então eram adicionadas as soluções de $Na_2S \cdot 9H_2O$, KNO_3 (ou $NaNO_2$) e $NaHCO_3$, com o auxílio de seringas. Estas soluções eram adicionadas separadamente, em relação ao meio reacional, para melhor controle de dosagem destes substratos e para que não houvesse alterações nas concentrações de sulfeto e bicarbonato durante o fluxionamento de gás. O procedimento de troca do meio reacional era realizado somente duas vezes por semana e, nos outros dias, somente a última etapa descrita, correspondente à adição de sulfeto, nitrato (ou nitrito) e bicarbonato por meio de seringas, era executada, sem abertura dos frascos.

A coleta de amostras para monitoramento dos reatores foi iniciada após período de adaptação de aproximadamente um mês, e era realizada ao início e final dos ciclos, duas vezes por semana. Os dias escolhidos para análises de monitoramento eram os mesmos em que se realizava troca do meio reacional, para se diminuir o efeito do acúmulo de produtos de ciclos anteriores. Desta forma, após execução do procedimento descrito anteriormente para troca do meio reacional e adição de todos os componentes para início do ciclo, eram retiradas amostras com auxílio de seringas e, após 24 horas, novas amostras eram coletadas, representando as condições dos reatores ao final do ciclo.

4.2.5 Análise cinética

O monitoramento dos reatores em cada condição foi feito por período considerado suficiente para a estabilidade do processo, que era constatada em períodos em que os reatores apresentavam similaridade dos parâmetros físico-químicos analisados ao final de vários ciclos subsequentes. Nestes períodos de estabilidade, foram executados perfis temporais para obtenção de parâmetros cinéticos da desnitrificação autotrófica.

Os perfis temporais, assim como as análises de monitoramento, foram realizados após a troca do meio reacional, para evitar acúmulo de produtos dos ciclos anteriores. Nestes eventos, amostras foram coletadas ao longo de um ciclo de operação de cada um dos reatores. A coleta focou-se principalmente nas oito primeiras horas do ciclo, período em que a totalidade da desnitrificação normalmente ocorria, e os pontos temporais de coleta foram mais concentrados nas duas primeiras horas e mais espaçados nas demais. Foram realizados dois perfis usando nitrato como receptor de elétrons na fase II, aos dias 72 e 83 de operação, e dois perfis usando nitrito como receptor de elétrons na fase IV, aos dias 121 e 128 de operação, para cada um dos reatores. Os parâmetros medidos durante os perfis temporais foram sulfeto, sulfato, nitrito e nitrato.

Modelos cinéticos foram ajustados aos dados dos perfis de consumo de nitrito e nitrato para obtenção de parâmetros cinéticos. Foram testados os modelos de ordem zero e primeira ordem, de acordo com as equações (4.1) e (4.2), respectivamente, para verificação do melhor ajuste aos dados experimentais obtidos. Para obtenção de parâmetros cinéticos específicos, foram medidos sólidos suspensos voláteis (SSV) ao início e final dos ciclos.

$$C = C_0 - k'_0 \cdot (t - t_0) \quad \text{.....(4.1)}$$

$$C = C_0 \cdot e^{k'_{ap} \cdot (t - t_0)} \quad \text{.....(4.2)}$$

Nas equações (4.1) e (4.2), C é a massa do composto nitrogenado por massa de SSV no tempo t (mg N.gSSV⁻¹); C₀ é a massa do composto nitrogenado por unidade de massa de SSV no tempo inicial t₀; k'₀ é a constante cinética específica do modelo de ordem zero (mg N.gSSV⁻¹.h⁻¹); k'_{ap} é a constante cinética específica aparente do modelo de primeira ordem; e t é o tempo (h).

4.2.6 Ensaio abiótico

Com vista na possibilidade de ocorrência de reações químicas independentes de atividade biológica, foram realizados ensaios abióticos pontuais de apenas um ciclo, para controle das alterações dos compostos de interesse sem a presença de microrganismos. Para isto, um novo frasco mantido nas mesmas condições utilizadas na primeira etapa, porém sem lodo de inóculo, foi autoclavado para esterilização e sofreu os mesmos procedimentos de adição de substratos descritos anteriormente para os outros reatores. O reator abiótico foi incubado juntamente com os outros reatores por 24 horas, e foram realizadas análises físico-químicas ao início e final do ciclo. Este procedimento foi feito para ambos os receptores de elétrons estudados na primeira etapa.

4.2.7 Biologia molecular

As análises de biologia molecular foram realizadas para os reatores em batelada operados na primeira etapa da pesquisa. Amostras de lodo dos reatores operados em triplicata foram retiradas após operação destes usando nitrato como receptor de elétrons, com relação $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ de 0,8 (fase II), em que foi observada estabilidade do processo. As amostras dos três reatores foram misturadas para obtenção de uma amostra representativa.

Estudos filogenéticos foram realizados através de DGGE (*Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*) e sequenciamento do gene 16S do RNA ribossomal (RNAr), e o DNA foi extraído da amostra segundo o protocolo de Melvin e Hobson (1994). As reações de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) foram executadas usando os primers universais 968FGC e 1392R para DGGE (NIELSEN et al., 1999) e 27F e 1100R para o sequenciamento (LANE, 1991), para o domínio *Bacteria*. Para as análises de sequenciamento, os produtos da PCR foram purificados com o kit Illustra GFX (GE Healthcare) e submetidos à clonagem usando pGEM Easy Vector System I. As amostras foram sequenciadas no sequenciador automático ABI Prism (Applied Biosystems). As sequências obtidas foram verificadas no software DNASTar (Lasergene Sequence Analysis), alinhadas com a base de dados do Greengenes (http://greengenes.lbl.gov/cgi-bin/nph-NAST_align.cgi) e filogeneticamente analisadas no software ARB (LUDWIG et al., 2004).

4.3 Segunda etapa

4.3.1 Sistema de reatores contínuos em escala de bancada

Na segunda etapa do trabalho, foram operados três reatores contínuos em escala de bancada, compondo sistema voltado para remoção de matéria orgânica e compostos nitrogenados de esgoto sanitário sintético. O sistema consistiu em um reator anaeróbio com configuração de UASB (R1) para remoção da matéria orgânica da água residuária inicial, um reator aeróbio de leito móvel (R2) para nitrificação do efluente do reator R1, e um reator anóxico (R3) para desnitrificação da mistura dos efluentes de R1 e R2, também com configuração de UASB. Os reatores operados e suas principais características estão apresentados na Tabela 4.3, e seus detalhes são mostrados na Figura 4.4.

Embora tenha sido realizado o monitoramento de todos os reatores para verificação da estabilidade das unidades, o estudo foi focalizado no reator desnitrificante (R3). A adoção das outras unidades (R1 e R2) teve por objetivo conferir maior realidade à composição da alimentação de R3, visto que efluentes de reatores anaeróbios apresentam fração orgânica residual de difícil degradação, e cuja composição é complexa e ainda desconhecida, inviabilizando sua simulação em efluentes sintéticos. Para contornar este problema, foram, portanto, operados como unidades auxiliares os reatores R1 e R2, possibilitando a alimentação de R3 com efluente produzido biologicamente e contendo todos os residuais inerentes aos processos de degradação anaeróbia e nitrificação.

Tabela 4.3 – Características dos reatores contínuos em escala de bancada operados na segunda etapa.

Reator	R1	R2	R3
Configuração	UASB; anaeróbico	Fluxo ascendente e leito móvel; aeróbico	UASB; anóxico
Inóculo	Biomassa suspensa granulada	Biomassa imobilizada	Biomassa suspensa fragmentada
Volume total (L)	11,20	2,70	3,77
TDH (considerando volume total) (h)	12	12	24
Função	Tratamento secundário	Nitrificação	Desnitrificação
Alimentação	Esgoto sanitário sintético	Efluente de R1	Mistura: Efluente de R1 + Efluente de R2
Componentes principais do afluente	Matéria orgânica e sulfato	Sulfeto, nitrogênio amoniacal e residual orgânico	Sulfeto, sulfato, nitrogênio amoniacal, nitrato e residual orgânico
Componentes esperados no efluente	Sulfeto, nitrogênio amoniacal e residual orgânico	Sulfato e nitrato	Enxofre elementar ou sulfato, nitrogênio amoniacal

A operação deste conjunto de reatores visou o estudo da desnitrificação autotrófica no reator R3, e a mistura dos efluentes de R1 e R2 foi adotada para fornecer a R3 os dois substratos fundamentais ao processo: sulfeto como doador de elétrons, e nitrato como receptor de elétrons. Os efluentes de reatores anaeróbios aplicados ao tratamento secundário de esgotos sanitários, como é o caso de R1, possuem como componentes principais nitrogênio amoniacal, sulfeto e residual de matéria orgânica. Ao se aplicar este efluente a reatores nitrificantes como R2, o residual orgânico é geralmente degradado, o sulfeto é oxidado a sulfato e o nitrogênio amoniacal é oxidado a nitrato. Desta forma, misturando-se este efluente nitrificado, proveniente de R2, com o efluente não-nitrificado, proveniente diretamente de R1, obtém-se efluente contendo o par doador-receptor de elétrons, possibilitando a ocorrência da desnitrificação autotrófica em R3. É importante observar, portanto, que, para a ocorrência do processo, não se pode nitrificar a totalidade do efluente de R1, pois desta maneira todo o sulfeto seria oxidado a sulfato, eliminando a presença do doador de elétrons para a desnitrificação autotrófica. O esquema experimental da segunda etapa da pesquisa está apresentado na Figura 4.5.

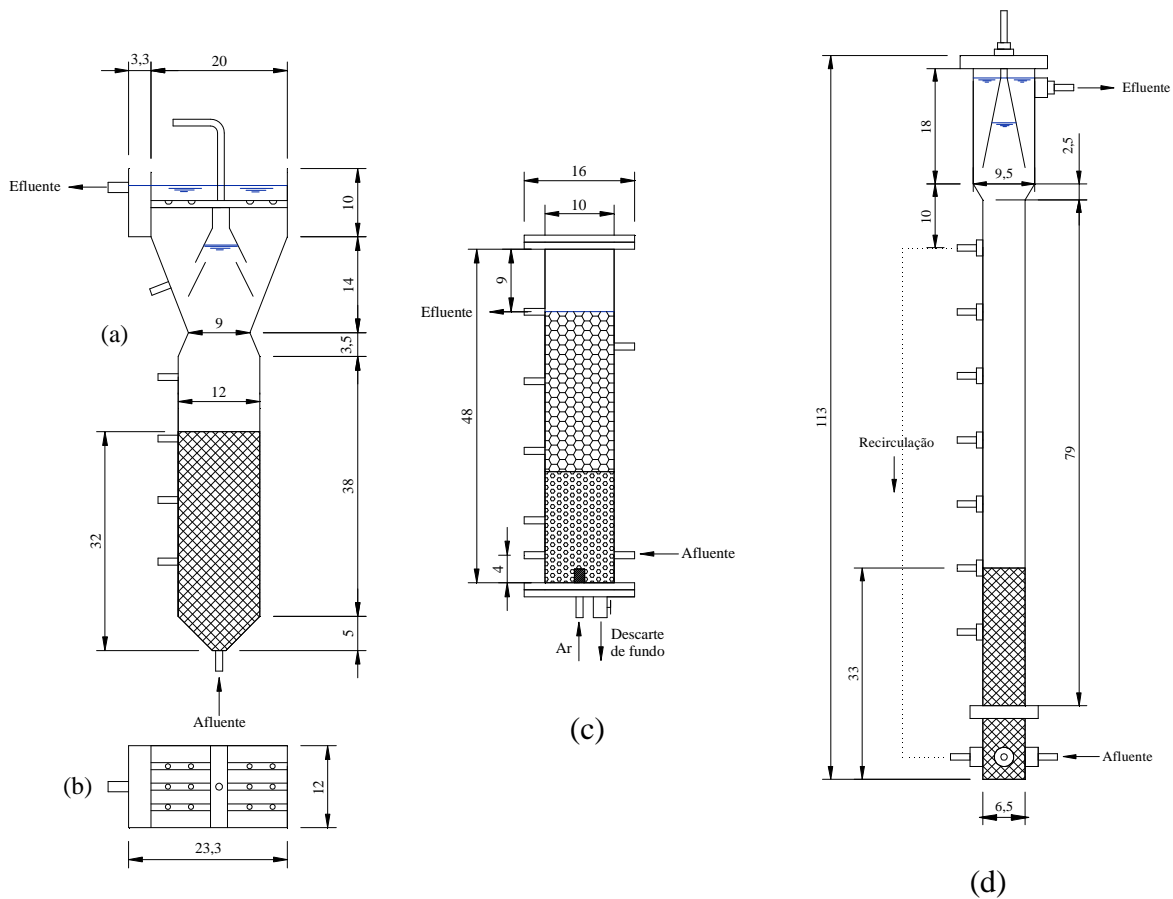


Figura 4.4 – Vistas dos reatores operados na segunda etapa da pesquisa: (a) vista lateral do reator UASB aplicado para digestão anaeróbia (R1); (b) vista superior de R1; (c) vista lateral do reator nitrificante (R2); (d) vista lateral do reator desnitrificante (R3). As medidas estão apresentadas em cm.

O reator R1 apresentava volume aproximado de 11,20 L, formato prismático e construído em acrílico. A alimentação desta unidade foi realizada através de bomba de diafragma e o tempo de detenção hidráulica utilizado foi de aproximadamente 12 horas, considerando-se o volume total do reator. O reator foi operado em câmara sem controle de temperatura, mas, como esta se localizava em sala climatizada, as temperaturas em seu interior situaram-se na faixa de 24 ± 1 °C. Embora a configuração do reator usado seja tipicamente a de reatores UASB, em termos hidrodinâmicos este tipo de simulação encontra dificuldades, já que uma das características hidrodinâmicas mais importantes neste tipo de unidade é a velocidade ascensional, que deve ser mantida em faixa adequada para suspensão da manta de lodo. Em sistemas piloto ou real, estas velocidades são alcançadas com sucesso mantendo-se o TDH em pelo menos 8 horas, devido à altura dos sistemas, geralmente em torno de 4,5 m. No caso de reatores em escala de bancada com pequena altura, como é o caso de R1, para se manter um TDH adequado são necessárias velocidades ascensionais bastante baixas, impedindo a suspensão da manta de lodo. Este problema foi contornado neste estudo

operando-se o reator com manta de lodo em excesso, favorecendo o contato biomassa-substrato mesmo sem a suspensão da manta.

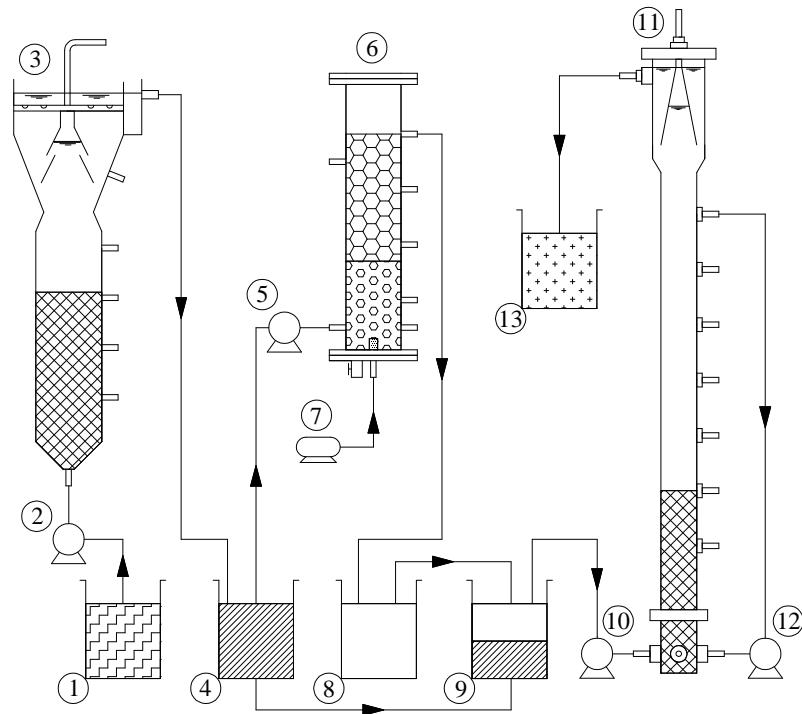


Figura 4.5 – Esquema experimental da segunda etapa da pesquisa: (1) esgoto sanitário sintético; (2) bomba para alimentação de R1; (3) reator UASB para digestão anaeróbia (R1); (4) esgoto doméstico pré-tratado anaerobiamente; (5) bomba para alimentação de R2; (6) reator nitrificante (R2); (7) compressor de ar; (8) efluente nitrificado; (9) mistura dos efluentes dos reatores R1 e R2; (10) bomba para alimentação de R3; (11) reator UASB para desnitrificação (R3); (12) bomba de recirculação; (13) efluente final.

O reator R2 era cilíndrico e feito de acrílico, com diâmetro de 10 cm e volume total de 2,70 L. Esta unidade foi mantida em câmara climatizada a 30 °C, e a operação foi realizada com TDH de 12 horas, considerando-se o volume total do reator. A alimentação era realizada por bomba de diafragma através de entrada localizada na parte inferior do reator, e o efluente era coletado na parte superior da unidade. Para a aeração do sistema, foi ligada uma bomba de ar para aquários a uma pedra porosa localizada na base do reator.

O reator desnitrificante R3 foi construído em acrílico, no formato de UASB cilíndrico, com diâmetros de 6,5 cm na região de reação e 9,5 cm na região de decantação. A unidade foi operada em câmara climatizada a 30 °C, e seu volume total era de 3,77 L. A operação foi realizada com TDH de 24 h, tempo considerado suficiente para a ocorrência do processo, segundo os resultados obtidos na primeira etapa do experimento. O inóculo utilizado foi biomassa suspensa fragmentada, e a alimentação foi feita por bomba peristáltica, com entrada

do afluente na parte inferior do reator, e saída do efluente na parte superior, após passagem por separador trifásico feito em vidro no formato cônico.

A Figura 4.6 mostra as três unidades descritas em funcionamento.

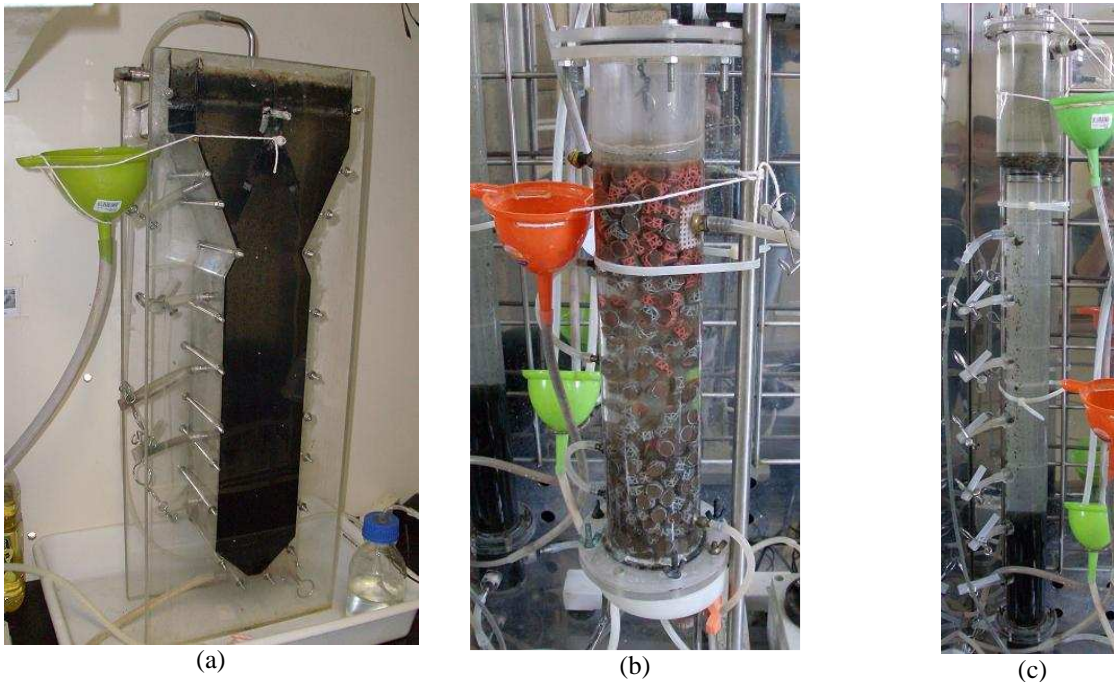


Figura 4.6 – Reatores operados na segunda etapa da pesquisa, em funcionamento: (a) R1; (b) R2; (c) R3.

No que diz respeito ao reator R3, valem as considerações feitas anteriormente para o reator R1 sobre a hidrodinâmica de reatores UASB em escala de bancada. Logo ao início do experimento, foi observada compactação excessiva da manta de lodo do reator R3, restringindo a região de contato biomassa-substrato do reator a um volume muito pequeno, e prejudicando a eficiência do sistema. Optou-se, portanto, por adicionar uma linha de recirculação, com o auxílio de bomba de diafragma, com vazão cinco vezes superior à vazão de entrada do afluente, para retornar o líquido localizado abaixo do separador trifásico para a manta de lodo na parte inferior do reator. Esta medida visou aumentar o tempo de contato do líquido com a biomassa presente na manta, assim como incrementar a velocidade ascensional do sistema, contribuindo para a suspensão da manta de lodo.

É importante ressaltar que, nesta etapa da pesquisa, o foco principal foi o processo de desnitrificação autotrófica e, pelo caráter mais fundamental do estudo, a otimização hidrodinâmica do reator não foi considerada. Desta forma, a escolha do reator UASB para o estudo do processo é justificada pela eficiência com que retém a biomassa em suspensão, já que seu crescimento em condições autotróficas é lento, e perdas excessivas de biomassa

poderiam prejudicar o experimento. Visto as dificuldades hidrodinâmicas descritas anteriormente, observa-se que, em termos de contato biomassa-substrato, esta unidade em escala de bancada é ineficiente. Entretanto, do ponto de vista de enriquecimento da biomassa e manutenção estável do processo estudado, a aplicação do reator foi válida.

4.3.2 Inóculo e material suporte

O reator R1 foi inoculado com lodo desnitrificante heterotrófico, proveniente de reator UASB utilizado no tratamento da água residuária da avícola Dacar, localizada em Tietê (SP). Este inóculo é metanogênico, e foi usado também na primeira etapa deste estudo. Para o reator R1, entretanto, o lodo foi mantido na forma granulada, pois esta estrutura microbiana favorece o processo de degradação anaeróbia aplicado nesta unidade. O inóculo continha em torno de 40 gSVT.L^{-1} , e o volume adicionado ao reator foi de aproximadamente 4,3 L, correspondente a cerca de 40% do volume total do reator.

O inóculo do reator nitrificante R2 foi obtido de sistema de lodos ativados para tratamento de esgoto sanitário da Volkswagen, localizada em São Carlos (SP). Por se tratar de lodo aeróbio, foi escolhido devido à sua atividade nitrificante. Este inóculo foi imobilizado em material suporte consistindo de cubos de espuma de poliuretano encaixados em cilindros de polipropileno conhecidos comercialmente como “*bobes*”. Os *bobes* possuíam diâmetro aproximado de 1 cm, e os cilindros foram cortados a cada centímetro. Desta forma, o material suporte final resultou em cubos de espuma de 1 cm de aresta encaixados em pequenos cilindros plásticos de 1 cm de diâmetro e 1 cm de altura (Figura 4.7).

Os *bobes* tiveram por função conferir resistência estrutural às matrizes de espuma de poliuretano, visto que estas são bastante comprimidas ao flatarem em sistemas que as aplicam em grande quantidade, devido à sua baixa densidade. Além disso, a utilização do material plástico altera a densidade do material suporte resultante, o que pode contribuir para a diminuição do fenômeno de flotação.

Aproximadamente 60% do volume do reator R2 foram preenchidos com o material suporte descrito. Inicialmente, todo o material suporte flutuou, se concentrando na parte superior do reator. Contudo, ao longo da operação da unidade, a porção inferior do material suporte flutuado se despreendeu do bloco superior, permanecendo em circulação devido à agitação proveniente das bolhas de ar. Desta forma, devido aos fenômenos descritos, o reator

R2 pode ser caracterizado como de leito móvel, embora uma fração do material suporte tenha permanecido fixa.



Figura 4.7 – Material suporte utilizado no reator R2, na segunda etapa da pesquisa: (a) detalhe; (b) no reator em operação.

O inóculo do reator R3 foi o mesmo utilizado para os ensaios da primeira etapa do experimento e para o reator R1, descritos anteriormente. Da mesma forma que na etapa anterior, o lodo de inóculo em questão foi fragmentado em liquidificador, para destruição dos grânulos e favorecimento do crescimento dos microrganismos de interesse. Inicialmente, o reator R3 foi inoculado com volume suficiente de lodo para preencher toda a zona de reação da unidade, localizada abaixo do separador trifásico. Porém, logo nos primeiros dias de operação, grande parte do lodo de inóculo foi eliminada do sistema por flotação, restando uma manta de lodo de aproximadamente 1,1 L, correspondente a cerca de 30% do volume total do reator, que se manteve estável no sistema durante a operação.

4.3.3 Água residuária

O reator R1 foi alimentado com esgoto sanitário sintético. A composição desta água residuária foi baseada na proposta por Torres (1992), e modificada segundo Sarti (1998). A composição pressupõe DQO média de $500 \text{ mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$, e apresenta substâncias de fácil e difícil degradação, além de compostos que contribuem para a complexidade da água residuária, como óleo e detergente.

Além da composição original do esgoto sanitário sintético, foi também adicionada fonte de sulfato, na forma de sulfato de sódio (Na_2SO_4), para possibilitar ao reator R1 a produção de sulfeto, utilizado como doador de elétrons no reator R3. A concentração de sulfato em esgotos sanitários apresenta valores bastante variáveis, e é dependente, entre outros fatores, das características da água de abastecimento do município. Além disso, a literatura é escassa com relação a valores médios de sulfato em esgotos sanitários. Desta forma, foi adotado para o experimento o valor de $100 \text{ mg SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, que foi escolhido por representar uma concentração razoável, porém não impossível em esgotos sanitários, para aplicação do processo em estudo. Adicionalmente, considerando-se redução total de sulfato a sulfeto em R1, o sulfato adicionado produziria em torno de $30 \text{ mg S}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, concentração semelhante à utilizada na primeira etapa do experimento, na condição estequiométrica. Os componentes do esgoto sanitário sintético modificado final estão listados na Tabela 4.4.

O reator R2 foi inicialmente alimentado com meio sintético voltado para o desenvolvimento de microrganismos nitrificantes. Este meio foi adaptado de Iamamoto (2006), e foi utilizado por aproximadamente quinze dias no início da operação. Sua composição é apresentada na Tabela 4.5.

Após estabilização da nitrificação com meio sintético, passou-se a aplicar ao reator R2 o efluente proveniente de R1. Para fornecimento de carbono inorgânico e controle de pH na nitrificação, foi mantida a adição de NaHCO_3 , na concentração de $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, durante toda a operação desta unidade nitrificante.

O reator desnitrificante R3 foi alimentado com mistura em proporções variáveis dos efluentes dos reatores R1 e R2. Este reator foi submetido a sete condições experimentais, que foram determinadas em função da alimentação. As variações na alimentação incluíram diferentes proporções de efluente nitrificado (proveniente de R2) e não-nitrificado (proveniente de R1), presença ou ausência de fonte adicional de micronutrientes, presença ou ausência de sulfeto, e diferentes adições de NaHCO_3 como fonte de alcalinidade. As condições a que o reator R3 foi submetido estão apresentadas na Tabela 4.6.

Tabela 4.4 – Composição do esgoto sanitário sintético utilizado na segunda etapa da pesquisa.

Componente	Quantidade
<i>Componentes principais</i>	
Extrato de carne (mg.L ⁻¹)	425
Sacarose (mg.L ⁻¹)	36
Amido (mg.L ⁻¹)	111
Celulose (mg.L ⁻¹)	41
Óleo de soja comercial (mL.L ⁻¹)	0,55
Detergente comercial (mL.L ⁻¹)	0,10
<i>Sais</i>	
NaCl (mg.L ⁻¹)	250
MgCl ₂ .6H ₂ O (mg.L ⁻¹)	7
CaCl ₂ .2H ₂ O (mg.L ⁻¹)	5
KH ₂ PO ₄ (mg.L ⁻¹)	23
K ₂ HPO ₄ (mg.L ⁻¹)	6
Na ₂ SO ₄ (mg.L ⁻¹)	148
NaHCO ₃ (mg.L ⁻¹)	200
<i>Micronutrientes</i>	
Ácido nitrilotriacético (NTA) (mg.L ⁻¹)	12,800
FeCl ₃ .6H ₂ O (mg.L ⁻¹)	1,350
MnCl ₂ .4H ₂ O (mg.L ⁻¹)	0,100
CoCl ₂ .6H ₂ O (mg.L ⁻¹)	0,024
CaCl ₂ .2H ₂ O (mg.L ⁻¹)	0,100
ZnCl ₂ (mg.L ⁻¹)	0,100
CuCl ₂ .2H ₂ O (mg.L ⁻¹)	0,025
H ₃ BO ₃ (mg.L ⁻¹)	0,010
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O (mg.L ⁻¹)	0,024
NaCl (mg.L ⁻¹)	1,000
Na ₂ SeO ₃ .H ₂ O (mg.L ⁻¹)	0,026
NiCl ₂ .6H ₂ O (mg.L ⁻¹)	0,120

Tabela 4.5 – Composição do meio sintético para nitrificação utilizado na segunda etapa da pesquisa.

Componente	Concentração (mg.L ⁻¹)
<i>Componentes principais</i>	
NH ₄ Cl	153
NaHCO ₃	600
MgSO ₄ .7H ₂ O	20
CaCl ₂ .2H ₂ O	4
KH ₂ PO ₄	10
K ₂ HPO ₄	10
<i>Micronutrientes</i>	
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,200
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,250
KMnO ₄	0,050
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,050
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,800
NiSO ₄ .6H ₂ O	0,050
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,200

Tabela 4.6 – Condições experimentais estudadas na operação do reator R3 na segunda etapa da pesquisa.

Fase	Efluente nitrificado (R2)	Efluente não-nitrificado (R1)	Sulfeto	Micronutrientes segundo Beristain-Cardoso et al. (2006)	Adição de NaHCO ₃
I	40 %	60 %	Sim	Sim	2000 mg.L ⁻¹
II	20 %	80 %	Sim	Sim	2000 mg.L ⁻¹
III	60 %	40 %	Sim	Sim	2000 mg.L ⁻¹
IV	40 %	60 %	Sim	Não	2000 mg.L ⁻¹
V	40 %	60 %	Não	Não	2000 mg.L ⁻¹
VI	40 %	60 %	Sim	Não	1000 mg.L ⁻¹
VII	40 %	60 %	Sim	Não	Não

As fases I, II e III visaram à determinação da proporção entre efluente nitrificado e não-nitrificado que gerasse o melhor desempenho do sistema, com relação à remoção global de nitrogênio. As variações nas proporções destes dois efluentes representaram aumento ou diminuição da disponibilidade de doadores e receptores de elétrons em cada caso. Desta forma, nas condições em que o efluente nitrificado se apresentou em excesso, houve excesso do receptor de elétrons, no caso o nitrato. Já nas condições em que o efluente não-nitrificado se apresentou em excesso, houve excesso de doadores de elétrons, como o sulfeto e possivelmente a matéria orgânica residual. Assim, a fase I fundamentou-se na estequiometria

do processo, a fase II representou um excesso de doadores de elétrons, e a fase III, um excesso de receptores de elétrons. A determinação da proporção próxima à estequiométrica e, portanto, da condição aplicada na fase I, foi feita de maneira teórica, através das concentrações de sulfeto e nitrato esperadas para os efluentes de R1 e R2. A proximidade ou não da estequiometria em cada fase só pôde, entretanto, ser determinada após obtenção das médias dos parâmetros dos efluentes dos reatores auxiliares R1 e R2, conforme apresentado no item 5.2.1. Além disso, a estequiometria do processo leva somente em conta sulfeto como doador de elétrons e nitrato como receptor. No caso do reator R3, existe a possibilidade da existência de outras fontes de doadores de elétrons como, por exemplo, a matéria orgânica residual, o que aumenta a complexidade do sistema, tornando ainda mais importante a determinação experimental da melhor proporção entre as três estudadas.

Embora a alimentação de R3 fosse proveniente dos outros reatores, era adicionado sulfeto de sódio nonahidratado ($\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$) para correção da concentração de sulfeto adequada a cada proporção de mistura dos efluentes de R1 e R2. Este procedimento foi adotado porque o sulfeto produzido no reator R1 se volatilizava ou oxidava no reservatório de coleta, de modo que, ao se preparar a alimentação para R3, este composto já não era detectado. Este fato representou um dos problemas observados na configuração experimental adotada nesta etapa da pesquisa, e foi levado em consideração no desenvolvimento da terceira etapa subsequente. Desta forma, partindo-se da concentração teórica prevista de sulfeto no efluente de R1, em torno de $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, calculou-se para cada proporção de mistura a concentração final de sulfeto necessária para a correção. Os valores calculados estão apresentados na Tabela 4.7.

Tabela 4.7 – Concentrações de sulfeto adicionadas para correção da alimentação de R3 nas diferentes fases da segunda etapa da pesquisa.

Fases	Efluente nitrificado (R2)	Efluente não-nitrificado (R1)	Concentração de sulfeto na mistura ($\text{mg S}^{2-}\cdot\text{L}^{-1}$)
I, IV, VI e VII	40 %	60 %	18
II	20 %	80 %	24
III	60 %	40 %	12
V	40 %	60 %	Não adicionado

Nas fases I, II e III, apesar de variada a proporção de mistura de efluentes na alimentação, foi garantido o fornecimento de alcalinidade e micronutrientes em abundância para o processo. Assim, utilizou-se concentração de $2000 \text{ mg NaHCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$ para controle de

pH e fornecimento de carbono inorgânico para os microrganismos autotróficos, e adicionou-se fonte de micronutrientes específica para o processo (Tabela 4.2). Ambos os procedimentos foram adotados com sucesso na primeira etapa do experimento, e foram propostos inicialmente por Beristain-Cardoso et al. (2006). Estes parâmetros, porém, foram alterados nas outras condições, mantendo-se a proporção de mistura estudada que gerou a melhor eficiência de remoção de nitrogênio.

A fase IV teve por função estudar a necessidade de adição de solução de micronutrientes específica para o processo. Isto foi feito retirando-se a solução de micronutrientes específica para R3 de sua alimentação, com monitoramento da estabilidade do processo. Os principais metais presentes nesta solução também estavam presentes na solução de micronutrientes adicionada ao afluente de R1 (Tabela 4.4) e, portanto, buscou-se verificar nesta condição se as concentrações de micronutrientes presentes no esgoto sanitário sintético eram suficientes para o processo de desnitrificação autotrófica no reator R3, mesmo após serem utilizadas parcialmente pelos microrganismos dos reatores R1 e R2. Constatada a não-necessidade da solução específica de micronutrientes, ela também não foi adicionada nas fases V, VI e VII.

Na fase V o sulfeto não foi adicionado e, portanto, o reator foi operado sem esta fonte de doadores de elétrons. Esta condição teve por objetivo verificar se a desnitrificação, observada até então nas condições anteriores, era realmente autotrófica e proveniente do uso do sulfeto como doador de elétrons. Além disso, o reator foi mantido nesta condição para identificação de outros processos alternativos de remoção de nitrogênio que pudessem estar ocorrendo de modo marginal no sistema.

Nas fases VI e VII, foi estudado o efeito da concentração da fonte de alcalinidade adicionada, que tinha por objetivo controle de pH e fornecimento de carbono inorgânico aos microrganismos. Nas condições anteriores, foi mantida a concentração de 2000 mg $\text{NaHCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$, que foi adotada na primeira etapa do experimento. Na fase VI esta concentração foi reduzida para 1000 mg $\text{NaHCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ e na fase VII não foi mais adicionado NaHCO_3 , estando presente na alimentação de R3 apenas a alcalinidade proveniente dos efluentes de R1 e R2. A operação do reator nestas duas condições teve por objetivo observar alterações no pH e possíveis instabilidades no processo devido à redução da alcalinidade fornecida.

4.3.4 Operação

A alimentação do reator R1 era preparada em reservatório e trocada a cada dois dias, e seu efluente era coletado em outro reservatório, de onde era retirado para a alimentação dos outros reatores. Durante o início da operação, foram feitas análises de monitoramento do afluente e efluente desta unidade regularmente para verificação da estabilidade. Constatada a estabilidade do reator nos primeiros meses de operação, foram feitas análises eventuais para controle ao longo do período de operação.

A alimentação do reator R2 era preparada em galão de 20 L e também era trocada a cada dois dias, e seu efluente era coletado em balde para uso na alimentação de R3. Da mesma forma que para R1, no início o monitoramento dos parâmetros físico-químicos foi mais intenso e, constatada a estabilidade da nitrificação, passou a ser apenas eventual.

A mistura dos efluentes de R1 e R2 para alimentação de R3 era feita em galões de 20 L, nas proporções correspondentes às diferentes condições. Os galões eram preparados no início de cada semana e estocados em geladeira, e o efluente misturado era usado ao longo da semana. Este efluente não apresentava sulfeto em sua composição, conforme já descrito anteriormente no item 4.3.3 e, portanto, eram retirados dos galões 5 L de efluente misturado por dia, e preparado frasco de alimentação vedado para correção da concentração de sulfeto. A alimentação diária de R3 era preparada em frasco de Duran de 5 L com septo emborrachado, ao qual foi acoplado um balão preenchido com gás nitrogênio para evitar a oxidação do sulfeto (Figura 4.8). Após adição de NaHCO_3 e enchimento do balão, a solução de $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ era adicionada por meio de seringas para obtenção da concentração de sulfeto correspondente à condição operacional estudada. Este frasco era mantido em geladeira, da qual partia mangueira de Tygon ligada à bomba de alimentação do reator R3.

As escolhas da alimentação diária em geladeira, da vedação do frasco e do uso de mangueiras de Tygon foram feitas para evitar ao máximo a oxidação ou volatilização do sulfeto da alimentação. Ainda assim, foram observadas perdas de sulfeto de até 30 % ao longo de 24 horas, tornando a concentração deste composto variável na alimentação. Como isto não pôde ser evitado, foi característica inerente do sistema ao longo de todo o período de operação.



Figura 4.8 – Frasco de alimentação do reator R3, na segunda etapa da pesquisa.

O monitoramento do reator R3 foi iniciado após período de adaptação de aproximadamente um mês, e foi feito duas vezes por semana. As amostras do afluente e efluente de R3 eram coletadas no mesmo horário da troca da alimentação diária, sendo que o afluente era coletado imediatamente após a troca e adição de sulfeto na nova alimentação. Assim, os resultados obtidos mostram a concentração máxima de sulfeto adicionada, sem as perdas temporais descritas.

4.4 Terceira etapa

4.4.1 Dimensionamento do sistema em escala piloto

Devido aos problemas relacionados à volatilização e oxidação de sulfeto, um dos principais substratos no processo de desnitrificação autotrófica, nos sistemas operados nas etapas anteriores, percebeu-se que a aplicação do processo para esgoto sanitário em sistema piloto só seria possível adotando-se nova configuração de reatores. Particularmente, um dos obstáculos observados principalmente na segunda etapa da pesquisa, quando foi operada sequência de três reatores para digestão anaeróbia, nitrificação e desnitrificação, foi a perda de sulfeto na saída do reator anaeróbio e no tanque intermediário de onde o efluente era coletado

para alimentação dos reatores subsequentes. Desta forma, viu-se por bem dimensionar um sistema que impedisse a perda de sulfeto, tanto pelo contato com a atmosfera, quanto pela permanência em tanques intermediários.

A idéia geral aplicada nas etapas anteriores foi baseada na nitrificação de parcela do efluente do reator anaeróbio inicial, e mistura com a parcela não-nitrificada remanescente para alimentação do reator desnitrificante. Assim, proporcionava-se no reator desnitrificante um ambiente propício à desnitrificação autotrófica, já que a parcela nitrificada continha nitrato como receptor de elétrons, enquanto a parcela não-nitrificada continha sulfeto como doador de elétrons. Para que a aplicação desta idéia, aliada à conservação do sulfeto, fosse viável no sistema piloto, a solução foi a transformação do sistema de três reatores, inicialmente aplicado na segunda etapa da pesquisa, em um sistema de dois reatores: um reator compartimentado anaeróbio-anóxico para digestão anaeróbia e desnitrificação, e um reator aeróbio para nitrificação. O esquema geral do sistema proposto está apresentado na Figura 4.9.

Conforme pode ser observado na Figura 4.9, o esgoto sanitário afluente era bombeado pela bomba B1 ao reator principal, denominado RA, compartimentado e de fluxo ascendente. O reator RA apresentava dois compartimentos separados, contendo material suporte, e após a entrada em RA, o afluente passava inicialmente pelo compartimento inferior, destinado à digestão anaeróbia. Uma parcela da vazão efluente do compartimento inferior de RA era então bombeada pela bomba B2 para o reator RB, aeróbio e de fluxo ascendente, também contendo material suporte. O reator RB tinha por função promover a nitrificação do efluente bombeado e, devido à sua maior altura em relação a RA, o efluente no topo de RB retornava por gravidade a RA, imediatamente abaixo de seu compartimento superior. Neste ponto, portanto, ocorria a mistura do efluente nitrificado, proveniente de RB, com o efluente remanescente não-nitrificado, que provinha diretamente do compartimento inferior. A mistura passava, então, pelo compartimento superior de RA, destinado à desnitrificação, e o efluente final era coletado no topo do reator.

Observa-se, portanto, que esta configuração retirava apenas a vazão destinada à nitrificação do reator RA, sendo que a parcela restante não-nitrificada, contendo o sulfeto, se mantinha intacta em RA, e era encaminhada diretamente ao compartimento superior sem contato com a atmosfera e sem turbulências. Desta forma, ao ocorrer a mistura das parcelas nitrificada e não-nitrificada abaixo do compartimento superior, era possível a formação do par doador-receptor de elétrons necessário à desnitrificação autotrófica.

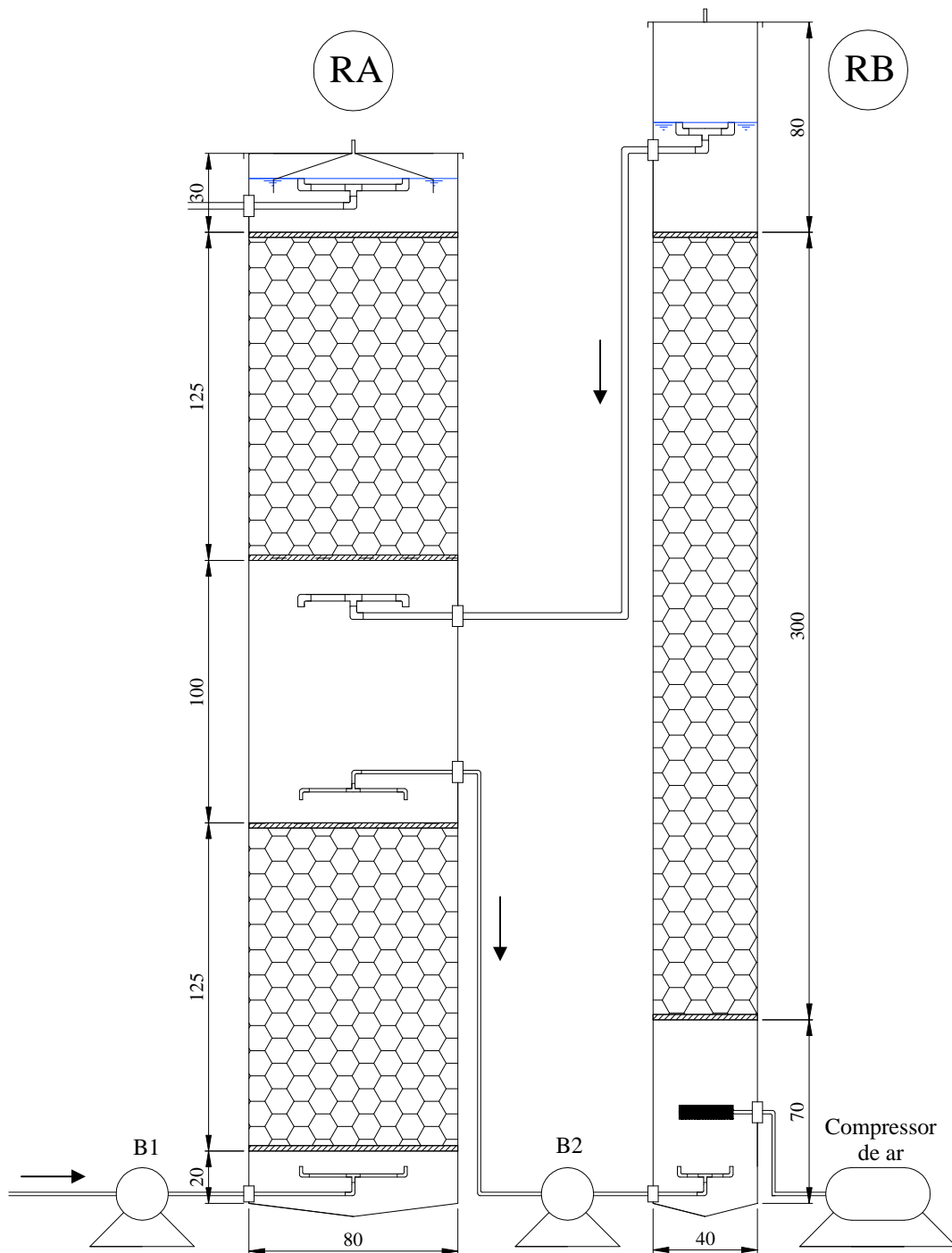


Figura 4.9 – Esquema geral do sistema de reatores em escala piloto utilizado na terceira etapa da pesquisa para tratamento de esgoto sanitário real. As medidas estão apresentadas em cm.

A desnitrificação autotrófica usando sulfeto como doador de elétrons não era, entretanto, o único processo passível de ocorrência no compartimento superior. O residual orgânico e o biogás, provenientes do compartimento inferior, poderiam também ser utilizados como doadores de elétrons para a desnitrificação. No caso do biogás, especificamente, a configuração proposta era vantajosa, já que sua geração no compartimento inferior de RA

devia obrigatoriamente passar pelo compartimento superior antes de sua liberação para a atmosfera. Como o biogás gerado em processos anaeróbios tem principalmente em sua composição metano, sulfeto gasoso e gás carbônico, a desnitrificação poderia ser favorecida pelo fato de que os dois primeiros são potenciais doadores de elétrons, enquanto o terceiro poderia fornecer alcalinidade e carbono inorgânico aos microrganismos do compartimento desnitrificante.

Assim, pode-se concluir que o sistema piloto proposto não era voltado unicamente à desnitrificação autotrófica, embora sua configuração a privilegiasse. Esperava-se, no compartimento desnitrificante, a ocorrência simultânea da desnitrificação autotrófica usando sulfeto dissolvido e gasoso como doadores de elétrons, a desnitrificação heterotrófica a partir do residual orgânico da digestão anaeróbia, e por fim possivelmente a desnitrificação metilotrófica usando o metano presente no biogás como doador de elétrons. Este fato caracteriza o sistema como sendo voltado para a desnitrificação usando diversas fontes endógenas de doadores de elétrons geradas pela digestão anaeróbia. Ele foi, portanto, denominado sistema DANDE – Digestão Anaeróbia, Nitrificação e Desnitrificação Endógena.

Os reatores foram dimensionados com alturas entre 4 e 5 m, adequadas a sistemas de fluxo ascendente reais, e os diâmetros dos reatores eram de 0,8 e 0,4 m, para RA e RB, respectivamente. O material suporte escolhido para ser colocado em cada compartimento foi o Biobob[®], da empresa BIO PROJ Tecnologia Ambiental. Os Biobobs[®] são cilindros de material plástico contendo espuma de poliuretano para imobilização celular (Figura 4.10), de forma que são vantajosos devido à grande área superficial e porosidade da espuma, aliadas à resistência estrutural do plástico. As características do material, segundo o fabricante, estão apresentadas na Tabela 4.8.

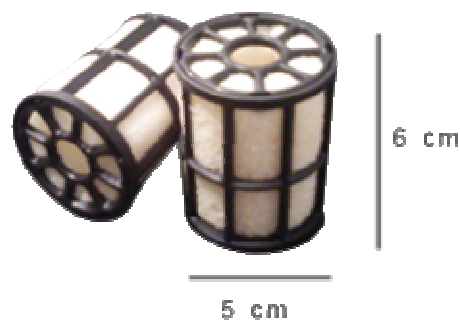
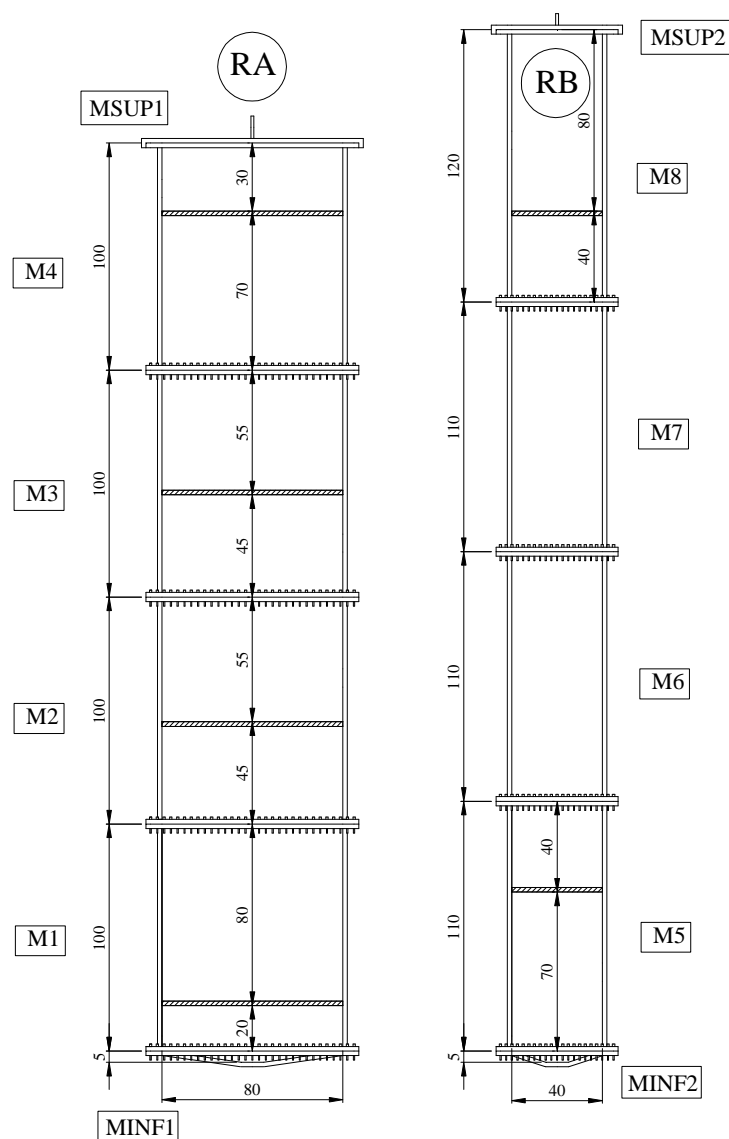


Figura 4.10 – Vista dos Biobobs[®] e dimensões. Fonte: www.bioproj.com.br.

Tabela 4.8. Características do Biobob[®], segundo o fabricante.

Diâmetro (mm)	45
Altura (mm)	60
Volume de espuma por unidade de Biobob [®] (cm ³)	85-90
Densidade da espuma (kg/m ³)	20-23
Porosidade da espuma (%)	95
Porosidade do leito com Biobob [®] (%)	70

Para facilitar a montagem, os reatores do sistema DANDE foram dimensionados em módulos de aproximadamente 1,0 m, e unidos por parafusos e flanges emborrachadas para evitar vazamentos, conforme mostrado na Figura 4.11. O corpo dos reatores foi apoiado em suportes de 30 cm de altura, também unidos ao corpo principal por flanges emborrachadas.

**Figura 4.11** – Modulação dos reatores do sistema DANDE.

Os compartimentos contendo os Biobobs[®] foram dimensionados com divisórias superiores e inferiores para contenção do material. No reator RA, os compartimentos se localizavam com uma distância de 1,0 m entre eles, para impedir que houvesse interferência hidrodinâmica entre o líquido sugado pela bomba B2 e o líquido que retornava ao reator, proveniente de RB. Foram previstos também, no dimensionamento, dispositivos de descarga de fundo, tomadas para coleta de amostras e material suporte ao longo de todo o corpo dos reatores, sistema de aeração para RB, e cone separador no topo de RA, para coleta e análise do biogás. As características gerais do sistema DANDE estão mostradas na Tabela 4.9.

Tabela 4.9 – Características gerais do sistema DANDE.

	RA	RB
Função	Digestão anaeróbia e desnitrificação	Nitrificação
Diâmetro interno (m)	0,80	0,40
Altura (m)	4,30	4,80
Volume total (m ³)	1,96	0,50
Volume útil (m ³)	1,58	0,39
Volume de material suporte (m ³)	1,26	0,38
Vazão (L/h)	55	11-33
TDH de cada compartimento (h)	8	8-24
TDH global do sistema (h)	28,7	

4.4.2 Montagem do sistema piloto

Os reatores do sistema DANDE foram construídos em fibra de vidro, material escolhido pela sua resistência estrutural, praticidade de moldagem e leveza no transporte. As peças foram executadas pela empresa Ecology Glass, localizada na cidade de Limeira (SP). Conforme descrito no item 4.4.1, os reatores foram construídos em módulos de aproximadamente 1,0 m (Figura 4.12a), que foram executados e enviados separadamente, para montagem no local do experimento. Em cada um dos módulos, foram colocadas flanges roscáveis de PVC nos locais apropriados para alocação de amostradores e tubulações, acoplados posteriormente.

Para o isolamento do material suporte em cada um dos compartimentos dos reatores, foram colocadas placas separadoras perfuradas ao início e término dos compartimentos. Estas placas foram também feitas em fibra de vidro, e parafusadas no interior dos reatores (Figura 4.12b).

As peças das tubulações internas e de junção entre o interior e exterior dos reatores, bem como o aerador no reator RB, foram acopladas aos módulos através de suas flanges roscáveis apropriadas, antes de se iniciar a sobreposição dos módulos. As tubulações internas, voltadas para distribuição e coleta de efluentes para entrada, saída e intercâmbio de efluentes entre os reatores, foram montadas em H, com quatro bocais para melhor cobrir o diâmetro dos reatores (Figura 4.12c e 4.12d).

Além das tomadas de amostras, alocadas ao longo do corpo dos reatores, foram também previstos poços de inspeção para coleta do material suporte presente nos compartimentos. Para isto, nas paredes ao longo de cada compartimento foram feitas aberturas de 10 cm de diâmetro, vedadas com caps roscáveis de 4" (Figura 4.13). Os poços de inspeção foram instalados para permitir a execução de análises microbiológicas e de biologia molecular, acessando-se o material suporte em diferentes pontos dos reatores. Estas análises foram realizadas pela doutoranda do programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento da Universidade de São Paulo (USP), Débora Faria Fonseca, e pela pesquisadora do Laboratório de Processos Biológicos (LPB), Flávia Talarico Saia, como parte de suas pesquisas, focadas no estudo das comunidades microbianas associadas à desnitrificação autotrófica.

Foram previstas 10 tomadas de amostra e 7 poços de inspeção ao longo do corpo do reator RA, e 7 tomadas de amostra e 6 poços de inspeção ao longo do corpo de RB, de acordo com a Figura 4.14 e a Tabela 4.10.

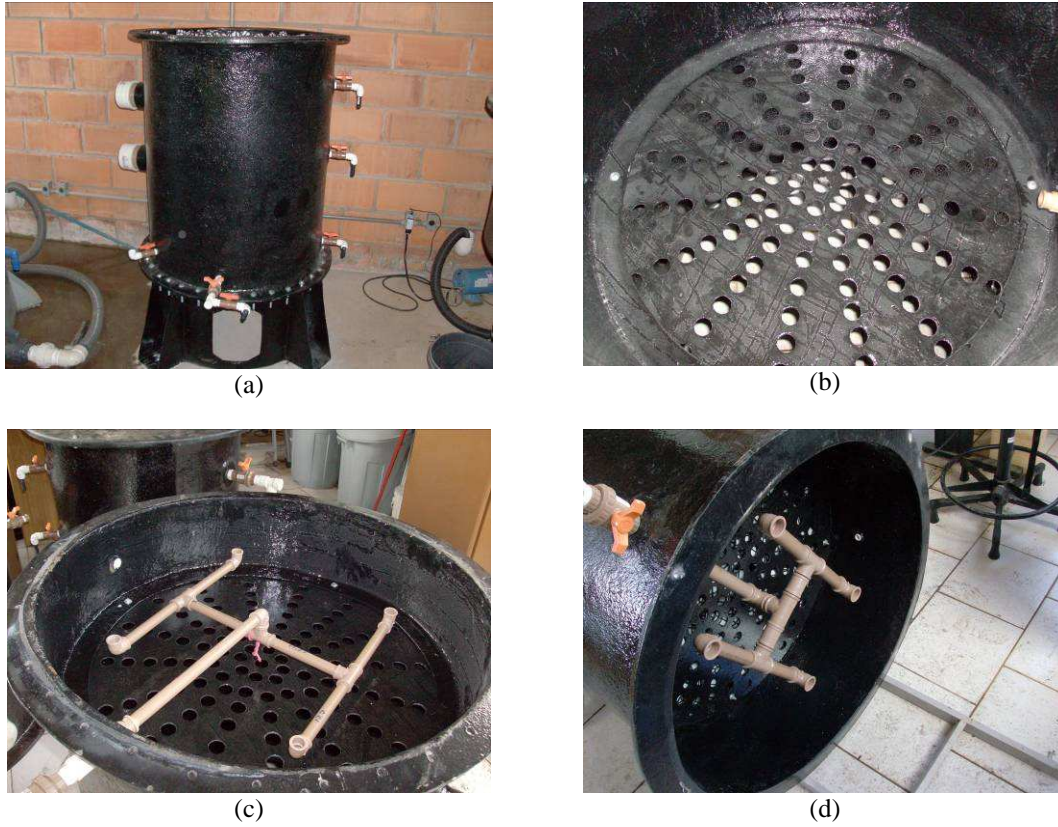


Figura 4.12 – Vistas dos módulos componentes do sistema DANDE: (a) módulo inferior suporte, acoplado a um dos módulos de 1,0 m; (b) placa perfurada para separação dos compartimentos; (c) tubulação de distribuição de efluente; (d) tubulação de coleta de efluente.



Figura 4.13 – Poços de inspeção para coleta do material suporte nos compartimentos.

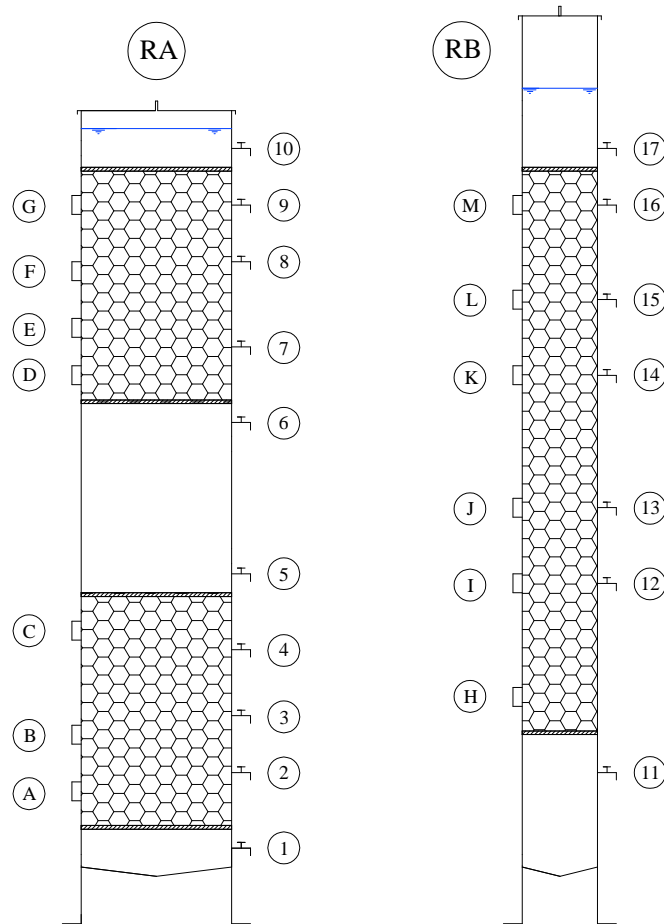


Figura 4.14 – Localização das tomadas de amostra e poços de inspeção do sistema DANDE.

Tabela 4.10 – Alturas, em relação à base, das tomadas de amostra e poços de inspeção do sistema DANDE.

RA		RB		RA		RB	
Tomada de amostra	Altura (m)	Tomada de amostra	Altura (m)	Poço	Altura (m)	Poço	Altura (m)
1	0,40	11	0,80	A	0,70	H	1,20
2	0,80	12	1,80	B	1,00	I	1,80
3	1,10	13	2,20	C	1,55	J	2,20
4	1,45	14	2,90	D	2,90	K	2,90
5	1,85	15	3,30	E	3,15	L	3,30
6	2,65	16	3,80	F	3,45	M	3,80
7	3,05	17	4,10	G	3,80		
8	3,50						
9	3,80						
10	4,10						

Os reatores foram montados através do empilhamento dos diversos módulos, já com todos os acessórios internos acoplados. Devido à impossibilidade de se inserir material suporte nos compartimentos após a montagem, os módulos foram empilhados já com material suporte inserido em cada compartimento. Como alguns módulos apresentavam placas

superiores de separação de compartimentos e, portanto, necessitavam empilhamento com material suporte na parte de baixo, adotou-se procedimento particular para solução deste problema de montagem. Nestes casos, os módulos foram invertidos, material suporte foi adicionado, amarrou-se uma tela para insetos com barbantes (Figura 4.15a), e novamente os módulos foram colocados na posição original para empilhamento. Desta forma, o material suporte localizado na parte de baixo dos módulos era impedido de cair durante a montagem. Após o empilhamento, a tela foi cuidadosamente retirada, através de seu deslizamento pela interface dos módulos (Figura 4.15b).

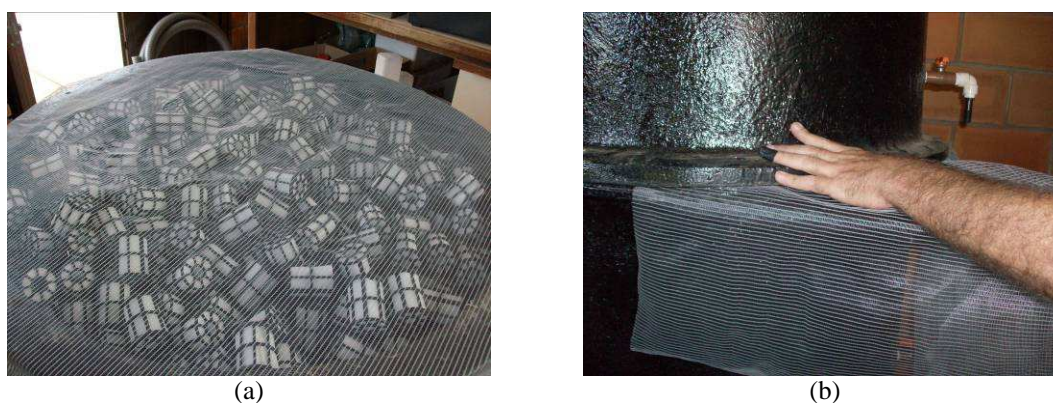


Figura 4.15 – Procedimento para empilhamento dos módulos do sistema DANDE com material suporte já inserido: (a) módulo invertido com material suporte e tela de insetos para contenção; (b) retirada da tela por deslizamento após empilhamento dos módulos.

O processo de empilhamento está mostrado na Figura 4.16. As flanges entre os módulos apresentavam grande quantidade de furos para parafusos, para garantir acoplamento eficiente entre os módulos e impedir vazamentos. Assim que cada módulo era empilhado, era também parafusado ao módulo inferior. Os módulos localizados nas partes mais altas dos reatores foram alocados com auxílio de uma escada. Para isto, eles foram amarrados na escada com barbantes, na altura correta, e alavancados para seu posicionamento adequado (Figura 4.16c).

Após a montagem do corpo dos reatores, procedeu-se ao acoplamento das tubulações e bombas ao sistema. As bombas utilizadas no experimento eram dosadoras a motor, da marca Etatron, modelos 0D0082BA para RA e 0D0049BA/0D0058BA para RB. Operavam através de pulsação de diafragma, e foram escolhidas por proporcionar ajuste fino de vazão nas faixas necessárias ao experimento, de 10 a 60 L/h, relativamente baixas quando comparadas com vazões de bombas centrífugas comuns, e por suportar a carga hidráulica oferecida pelos reatores.



(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 4.16 – Processo de montagem do corpo dos reatores do sistema DANDE: (a) um módulo de RA empilhado sobre o suporte; (b) dois módulos de RA empilhados; (c) três módulos de RA empilhados, mostrando procedimento de empilhamento com auxílio de escada; (d) RA e RB montados.

As tubulações de sucção, recalque e transferência de efluentes entre os reatores foram todas feitas em PVC para água fria. A sucção do reservatório de esgoto sanitário foi executada através da ligação da bomba de RA com o reservatório, acoplamento de válvula de pé com crivo e inserção desta válvula em cesto de inox perfurado (Figura 4.17b), para evitar a entrada de sólidos grosseiros. O conjunto foi colocado no reservatório em altura intermediária para impedir a sucção do lodo de fundo e da espuma superior (4.17c), e as bombas foram ligadas a bóia elétrica de nível para desligamento do sistema em caso de esvaziamento do reservatório.

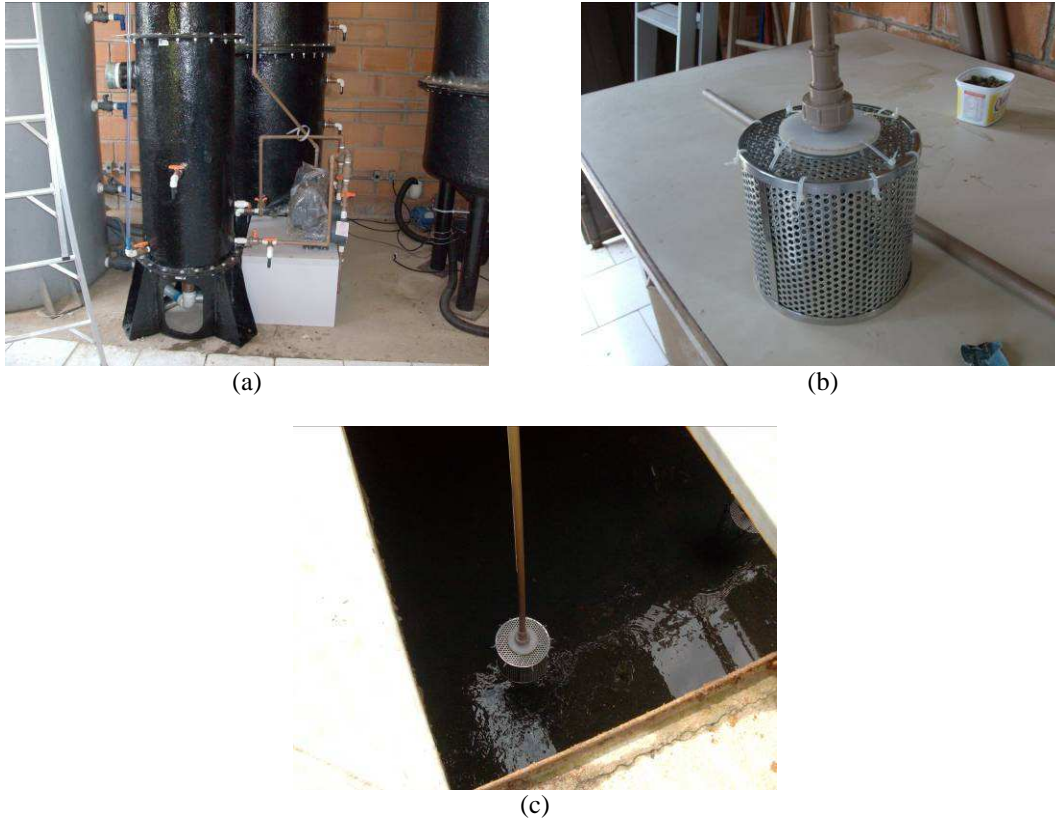


Figura 4.17 – Detalhes da instalação das bombas e da tubulação de sucção do sistema DANDE: (a) bombas acopladas aos reatores; (b) válvula de pé com crivo inserida em cesto de inox perfurado; (c) conjunto de sucção no interior do reservatório de esgoto sanitário.

Outros detalhes pertinentes em relação ao sistema são o aerador, o cone para coleta de biogás, os medidores de nível, a tubulação de saída do efluente e o contraventamento dos reatores. O aerador colocado no interior de RB para nitrificação era do tipo difusor de bolha fina circular, com diâmetro de 20 cm, da empresa B&F Dias. O cone para coleta de biogás tinha diâmetro de 60 cm e foi feito em fibra de vidro, mergulhado parcialmente no líquido no topo de RA e com saída na tampa do reator, para coleta e análise do biogás. Na lateral de ambos os reatores foram colocadas mangueiras transparentes acopladas a registros abertos na parte inferior dos reatores e fixadas ao longo do corpo destes até o topo, para controle de nível durante a operação. A tubulação de saída do efluente final foi feita com tubulação flexível sanfonada, fixada da mesma maneira que o controle de nível, e depositada em local próprio para descarte do efluente. E, por fim, os reatores RA e RB foram ligados entre si por chapas de aço para contraventamento estrutural (Figura 4.18), visto que RB, por ser muito delgado, poderia sofrer instabilidade durante a operação ou em eventos em que fosse necessário suporte da escada na lateral do reator.

O sistema completamente montado está apresentado na Figura 4.19.



Figura 4.18 – Detalhe do contraventamento entre os reatores RA e RB do sistema DANDE.



Figura 4.19 – Vista do sistema DANDE completamente montado, ao centro.

4.4.3 Auto-inoculação

A partida do sistema DANDE foi feita através de auto-inoculação, ou seja, não foi adicionado lodo inicialmente, e a comunidade microbiana foi desenvolvida apenas com a alimentação dos reatores com o esgoto sanitário. Optou-se por este procedimento devido ao porte dos reatores e à sua característica compartimentada, o que dificultaria o transporte e inserção da quantidade de lodo necessária ao processo de inoculação convencional.

A auto-inoculação foi realizada por etapas, sendo a primeira referente ao estabelecimento da digestão anaeróbia no compartimento inferior de RA. Para isto, somente a bomba de alimentação de RA foi ligada, com a mesma vazão prevista para o experimento, resultando em um TDH de 8 horas nos compartimentos inferior e superior, e de cerca de 28 horas globalmente no reator. A auto-inoculação de RA separadamente de RB foi necessária, visto que, se o ambiente aeróbio de RB recebesse efluente do compartimento anaeróbio de RA sem este estar estabilizado, a matéria orgânica presente no efluente geraria grande quantidade de biomassa aeróbia heterotrófica em RB, prejudicando o desenvolvimento posterior da biomassa autotrófica nitrificante. Assim, a bomba de alimentação de RB foi ligada somente quando o efluente do compartimento anaeróbio de RA apresentava características típicas de esgotos sanitários pré-tratados anaerobiamente.

A auto-inoculação do compartimento anaeróbio de RA causou, por consequência, a auto-inoculação do compartimento superior do reator, previsto para desnitrificação, com biomassa heterotrófica. Isto está de acordo com as condições aplicadas nas etapas anteriores da pesquisa, em que a desnitrificação autotrófica foi desenvolvida a partir de biomassa heterotrófica.

4.4.4 Água residuária

O sistema foi montado na Área de Pesquisa em Tratamento de Esgoto Sanitário do Laboratório de Processos Biológicos (LPB) (Figura 4.20a), próxima ao prédio da Engenharia Ambiental, na Área II do Campus de São Carlos da Universidade de São Paulo. Esta sala foi construída especificamente para experimentos alimentados com esgoto sanitário real, já que

apresenta ao seu lado um reservatório (Figura 4.20b) que continuamente recebe esgoto de emissário municipal que passa próximo ao edifício.



Figura 4.20 – Área de Pesquisa em Tratamento de Esgoto Sanitário do Laboratório de Processos Biológicos (LPB), para experimentos com esgoto sanitário real: (a) vista do edifício; (b) reservatório de esgoto sanitário para alimentação dos reatores.

4.4.5 Operação

O sistema DANDE foi mantido em ambiente com moderado controle de temperatura. A área onde se situava contava com sistema de ar condicionado programado a 25 °C, instalado com o propósito de proporcionar conforto humano, visto que a temperatura em dias quentes podia ultrapassar os 30 °C. Ainda assim, os equipamentos de ar condicionado não tinham capacidade suficiente para manter, em dias muito quentes, a temperatura programada, estando o sistema piloto sujeito a temperaturas ambientes de até 27 °C. Por outro lado, dependendo da época do ano, as temperaturas atingiam 10 °C em dias frios, sofrendo o sistema uma grande variação de temperatura ao longo de um só dia, com temperaturas baixas à noite e temperaturas altas no período da tarde.

O reservatório de esgoto sanitário descrito no item 4.4.3 era esvaziado de três a cinco vezes por semana para limpeza do cesto perfurado contendo a válvula de pé com crivo da tubulação de sucção do sistema piloto. Este procedimento impedia o entupimento das aberturas do cesto, prevenindo problemas nas bombas, e também eliminava os sólidos grosseiros que se acumulavam periodicamente no reservatório. Nestes eventos, as bombas do sistema eram desligadas por meio de bóia elétrica de nível.

Após o estabelecimento estável dos processos nos compartimentos, foram aplicadas as condições experimentais ao sistema. Estas condições foram relativas à fração do efluente do compartimento inferior de RA que era enviada a RB para nitrificação. A condição inicial do sistema, correspondente à fase I, foi a nitrificação de 20 a 30% da vazão de RA, e a condição posterior (fase II) consistiu no aumento deste parâmetro operacional para 40 a 60% da vazão de RA. O sistema foi mantido em cada uma das condições por 45 a 60 dias.

Inicialmente, a proposta era o incremento progressivo da fração do efluente do compartimento inferior de RA enviada a RB, nas condições de 20, 40 e 60% da vazão total de RA. Entretanto, o controle preciso das bombas dosadoras a motor não foi possível, sendo detectadas variações significativas diariamente, o que resultou na determinação das condições operacionais a partir de faixas de vazões.

As vazões dos reatores RA e RB foram medidas frequentemente ao longo da operação do sistema. Para isto, com o auxílio de uma proveta e de um cronômetro, a vazão do efluente final era medida, representando a vazão de RA. O registro localizado na tubulação de ligação entre a saída de RB e entrada em RA para transporte do efluente nitrificado era então fechado, de modo que, no ponto de coleta do efluente final, a vazão total ficava subtraída da parte enviada a RB. Media-se então esta vazão e, juntamente com o valor medido inicialmente, podia-se inferir a vazão de RB. Todas as medidas eram realizadas em duplicata ou triplicata para maior precisão.

Houve interrupção da operação do sistema DANDE entre as fases I e II por aproximadamente um mês, devido à quebra de uma das bombas de alimentação. Neste período, os reatores foram mantidos preenchidos com efluente, e a aeração de RB foi mantida. Após a instalação de nova bomba, os reatores passaram por novo período de adaptação.

As análises físico-químicas foram executadas separadamente para cada compartimento, ou seja, monitoramento do compartimento anaeróbico de RA, do compartimento nitrificante de RB, e do compartimento desnitrificante de RA. Foram coletadas amostras afluentes e efluentes de cada compartimento, através dos amostradores presentes ao longo do corpo dos reatores. Adicionalmente, foram também realizadas análises da composição do biogás gerado em RA, duas vezes por semana. Evitava-se a coleta de amostras em dias chuvosos, visto que nestes períodos o esgoto sanitário apresentava-se diluído, descaracterizando a água residuária e o estudo do processo.

Ao final da fase II, foram realizados perfis espaciais de RA e RB e perfil temporal do efluente de RA, levando-se em conta os principais parâmetros de interesse. Isto foi feito para caracterizar a ocorrência do processo ao longo dos reatores, e para avaliar a estabilidade do

sistema temporalmente, visto que as características do esgoto sanitário afluyente variavam significativamente ao longo do dia. Estes procedimentos não puderam ser realizados ao final da fase I, devido à quebra de uma das bombas de alimentação e à interrupção da operação no período da execução dos perfis desta condição operacional. Como a operação durante a fase I não demonstrou resultados satisfatórios em termos do processo de desnitrificação, optou-se, após a instalação de nova bomba, prosseguir para a fase II sem a execução dos perfis da fase I, visto que estes últimos requereriam nova adaptação do sistema para a volta às condições originais existentes na fase I antes da interrupção.

As variações horárias das características do esgoto sanitário afluyente impediam que a análise dos dados fosse feita em termos de eficiência global do sistema, visto que esta eficiência dependia do horário de coleta do afluyente. Desta forma, as amostras afluentes eram coletadas em horários adequados durante o dia, apenas para controle, e o desempenho do sistema era analisado principalmente pelas características de seu efluente. Para isto, considerou-se que o reator amortecia as variações observadas no afluyente, produzindo, em períodos de estabilidade, efluente com características relativamente constantes ao longo do dia.

4.4.6 Perfis temporais do esgoto sanitário real

Para caracterização do esgoto sanitário real utilizado na terceira etapa, foram realizados perfis temporais, com coleta de amostras de hora em hora. Os perfis foram realizados em três dias típicos ao longo do ano de 2009, nos meses de abril, julho e novembro. A coleta foi feita diretamente do reservatório, através de bomba utilizada para alimentação de um dos reatores instalados no edifício. A tubulação de sucção apresentava válvula de pé-com-crivo envolta por cesto gradeado metálico e tela para evitar a passagem excessiva de sólidos. Desta forma, os perfis levaram em consideração a dinâmica do reservatório e o impedimento da passagem de sólidos grosseiros, o que é válido em termos de resultados, já que todos os reatores operados no local eram submetidos a estas condições. Os parâmetros físico-químicos monitorados nestes eventos foram DQO total e filtrada, sulfato e nitrogênio amoniacal.

4.5 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas foram executadas, nas diferentes etapas da pesquisa, de acordo com o estabelecido no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (2005).

Sulfeto ($S^{2-}/HS^-/H_2S$) foi medido como sulfeto dissolvido total por colorimetria através do método do azul de metileno, e sulfato (SO_4^{2-}) foi medido por turbidimetria através do método do cloreto de bário. Para a execução de ambas as análises, foi empregado espectrofotômetro HACH, modelo DR/2500.

As análises de Demanda Química de Oxigênio (DQO) total foram feitas com as amostras brutas, e as de DQO filtrada foram feitas filtrando-se as amostras em membranas de 1,2 μm . Estes parâmetros foram medidos por colorimetria, também em espectrofotômetro HACH, modelo DR/2500.

Alcalinidade a bicarbonato (AB, como $CaCO_3$) e ácidos voláteis totais (AVT, como ácido acético) foram analisados por titulometria, de acordo com método descrito por Dilallo e Albertson (1961), modificado por Ripley et al. (1986). Na segunda etapa da pesquisa foi medida apenas alcalinidade total, pelo mesmo método.

Nitrito ($N-NO_2^-$) e nitrogênio amoniacal ($N-NH_4^+$) foram medidos por colorimetria através de FIA (*Flow Injection Analysis*), com auxílio de espectrofotômetro FEMTO, modelo 600S. Nitrato ($N-NO_3^-$) também foi feito desta maneira na primeira etapa do experimento. Já na segunda e terceira etapas, nitrato foi medido por radiação ultravioleta (UV), em espectrofotômetro HACH, modelo DR/4000U. Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK) foi medido por titulometria, somente na terceira etapa da pesquisa.

Medidas de pH, potencial de óxido-redução (pOR) e oxigênio dissolvido (OD) foram obtidas por potenciometria, e sólidos suspensos voláteis (SSV) foram medidos por gravimetria.

A composição do biogás foi medida por cromatografia gasosa, utilizando-se cromatógrafo Gow-Mac, modelo 69, com coluna Porapak-Q (comprimento de 2,0 m e diâmetro de 1/4") com detector de condutividade térmica, série 150. O gás de arraste usado foi o hidrogênio super seco.

A listagem das análises, a etapa de aplicação e a metodologia estão apresentadas na Tabela 4.11.

Tabela 4.11 – Análises físico-químicas executadas nas diferentes etapas.

Análise	Etapas			Método
	1	2	3	
pH	X	X	X	Potenciométrico
DQO Total	-	X	X	Colorimétrico
DQO Filtrada	-	X	X	Colorimétrico
Alcalinidade a Bicarbonato (AB)	-	X	X	Titulométrico
Ácidos Voláteis Totais (AVT)	-	-	X	Titulométrico
Sulfeto (S-S ²⁻)	X	X	X	Colorimétrico
Sulfato (S-SO ₄ ²⁻)	X	X	X	Turbidimétrico
Nitrito (N-NO ₂ ⁻)	X	X	X	Colorimétrico
Nitrato (N-NO ₃ ⁻)	X	X	X	Colorimétrico
Nitrogênio Amoniacal (N-NH ₄ ⁺)	X	X	X	Colorimétrico
Nitrogênio Total Kjeldahl (N-NTK)	-	-	X	Titulométrico
Oxigênio Dissolvido (OD)	-	-	X	Potenciométrico
Potencial de Óxido-Redução (pOR)	-	X	X	Potenciométrico
Sólidos Suspensos Voláteis (SSV)	X	-	-	Gravimetria
Composição do Biogás	-	-	X	Cromatografia

4.6 Exames microscópicos

Para caracterização morfológica das amostras tanto da biomassa da primeira etapa do experimento quanto da biomassa do reator R3 na segunda etapa, foram realizados exames por microscopia óptica de contraste de fase e fluorescência, utilizando-se microscópio óptico Olympus, modelo BX60-FLA, e sistema de captura de imagens Image Pro-Plus. As amostras de lodo foram retiradas dos reatores e imediatamente fixadas com agar 2% entre lâmina e lamínula.

“Nunca o homem inventará nada mais simples nem mais belo do que uma manifestação da natureza. Dada a causa, a natureza produz o efeito no modo mais breve em que pode ser produzido”

Leonardo da Vinci (1452-1519)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Primeira etapa

5.1.1 Monitoramento dos reatores em batelada

Os reatores estudados na primeira etapa da pesquisa foram operados por período de 128 dias, sendo que nos primeiros 96 dias foi dosado nitrato como receptor de elétrons, e nos 32 dias restantes foi dosado nitrito como receptor de elétrons. A adaptação da biomassa ocorreu de forma relativamente rápida, e foi observada desnitrificação completa com utilização de sulfeto e produção de sulfato após aproximadamente um mês de operação.

Em todo o período, os valores de pH se mantiveram estáveis entre 7 e 8, faixa considerada ótima para o desenvolvimento dos microrganismos responsáveis pelo processo, segundo Claus e Kutzner (1985). A estabilidade do pH foi obtida com sucesso devido às altas concentrações de bicarbonato de sódio adicionadas e ao fluxionamento com a mistura gasosa N_2/CO_2 . Estas medidas foram necessárias para manter os valores de pH próximos ao neutro, já que a solução de sulfeto de sódio utilizada é extremamente alcalina e eleva sobremaneira o pH de meios pouco tamponados.

Este obstáculo é um limitante em pesquisas que utilizam sulfeto de sódio como forma de suplementação de sulfeto. Garbossa (2006) optou por trabalhar com baixas concentrações de sulfeto, em experimento em frascos para estudo da desnitrificação autotrófica, pois a dosagem estequiométrica necessária, de $30 \text{ mg S}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$, causou elevações excessivas dos valores de pH até próximo a 10, com conseqüente inibição dos microrganismos. O autor, entretanto, não adotou fluxionamento com mistura gasosa de N_2/CO_2 , e seu meio nutricional

era suprido com apenas $300 \text{ mg NaHCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$, apresentando, portanto, baixa capacidade de tamponamento. Campos et al. (2008) relataram a inviabilidade de se utilizar solução de sulfeto de sódio para obtenção de valores acima de $100 \text{ mg S}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ em seus experimentos, já que o tamponamento obtido através da adição de $1500 \text{ mg NaHCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ era insuficiente.

Desta forma, as condições operacionais impostas a experimentos onde a suplementação de sulfeto de sódio é necessária são limitadas, por um lado, pelas concentrações de sulfeto escolhidas, que devem ser moderadas, e por outro, pela forma de controle do pH, que não pode comprometer a viabilidade experimental. Entretanto, o sulfeto de sódio permanece como a única alternativa viável de suplementação direta de sulfeto na forma dissolvida. Trabalhos com concentrações mais altas normalmente são realizados utilizando águas residuárias que já apresentam concentrações consideráveis de sulfeto em sua composição, ou que apresentam elevada concentração de sulfato e passam preliminarmente por etapa sulfetogênica (KLEEREBEZEM; MENDEZ, 2002; VAIPOULOU et al., 2005).

Os resultados médios de monitoramento dos reatores no período em que nitrato foi aplicado como receptor de elétrons estão apresentados na Tabela 5.1. Neste período, após adaptação inicial, observou-se consumo quase completo de sulfeto durante todo o período de operação (Figura 5.1), com resíduos eventuais principalmente na fase II (relação molar $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ de 0,8). Houve, entretanto, dificuldades na dosagem do sulfeto nas condições teóricas pré-estabelecidas, já que, nas faixas de pH próximas à neutralidade, este composto apresenta alta volatilidade, com consequentes perdas para o biogás. De acordo com a Figura 5.2, para valores de pH próximos a 7,0, o sulfeto se apresenta dividido igualmente entre a forma HS^- e a forma H_2S , sendo esta última passível de volatilização, enquanto para valores de pH mais altos, predominam as formas HS^- e S^{2-} , que somente se apresentam em estado líquido. Além disso, o sulfeto se oxida facilmente com residuais de oxigênio que por ventura existam no meio onde é adicionado. Assim, as concentrações de sulfeto detectadas no início dos ciclos foram sempre menores que as teóricas adicionadas.

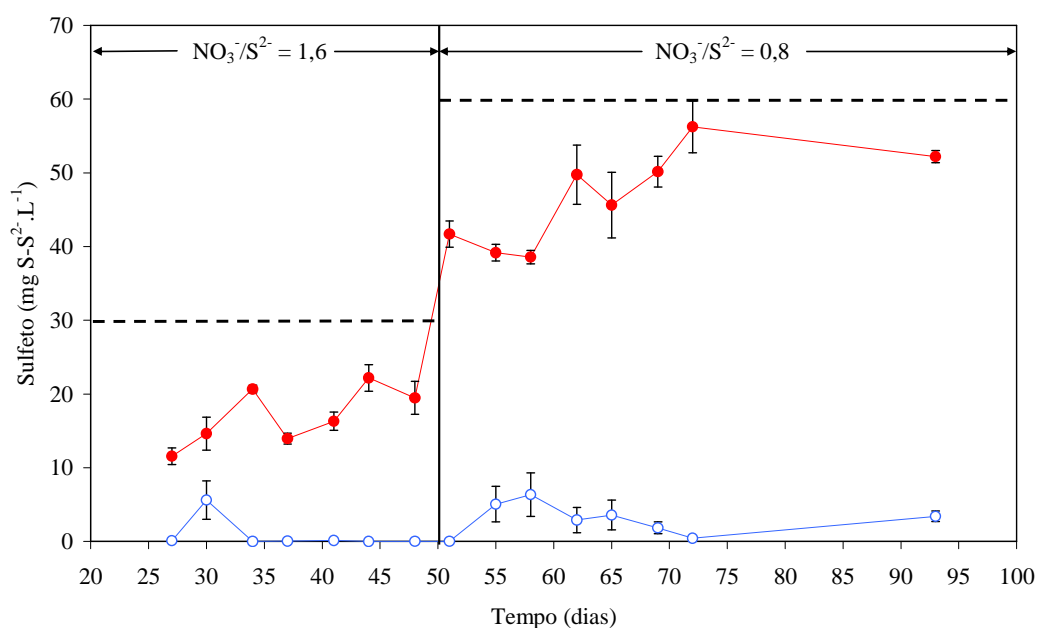


Figura 5.1 – Concentração de sulfeto ao início e final dos ciclos durante operação com nitrato como receptor de elétrons, na primeira etapa. Legenda: (●) início do ciclo; (○) final do ciclo; (---) concentrações teóricas adicionadas. As barras verticais representam o desvio padrão das triplicatas.

Ainda que houvesse a possibilidade de oxidação após injeção da solução de sulfeto de sódio nos frascos, provavelmente a maior parte desta diferença deveu-se ao equilíbrio existente entre o sulfeto presente no meio líquido e no *headspace* dos reatores, após homogeneização dos mesmos, o que gerou os resultados abaixo do esperado de amostras do meio líquido. Entretanto, considera-se que, conforme ocorre o consumo do sulfeto no meio líquido, a fração presente no biogás gradualmente se dissolve, restabelecendo o equilíbrio inicial, de acordo com a Lei de Henry. Portanto, para efeito das considerações estequiométricas e de recuperação de enxofre na forma de sulfato deste estudo, foram assumidas como verdadeiras as concentrações teóricas de sulfeto adicionadas.

Tabela 5.1 – Resultados médios obtidos na operação com nitrato como receptor de elétrons, na primeira etapa.

Parâmetro	NO ₃ ⁻ /S ²⁻ = 1,6 (fase I)		NO ₃ ⁻ /S ²⁻ = 0,8 (fase II)	
	Início do Ciclo	Final do Ciclo	Início do Ciclo	Final do Ciclo
pH	7,37 ± 0,25	7,38 ± 0,21	7,47 ± 0,12	7,49 ± 0,12
Sulfeto (mg S-S ²⁻ ·L ⁻¹)	16,97 ± 3,90	0,84 ± 2,10	46,68 ± 6,45	2,95 ± 2,16
Sulfato (mg S-SO ₄ ²⁻ ·L ⁻¹)	48,09 ± 14,18	73,28 ± 20,15	56,13 ± 13,41	96,46 ± 19,86
Recuperação de S-SO ₄ ²⁻ (%)	76,74 ± 21,24		67,21 ± 25,39	
Nitrato (mg N-NO ₃ ⁻ ·L ⁻¹)	14,87 ± 1,10	0,67 ± 1,30	17,54 ± 2,27	0,01 ± 0,03
Nitrito (mg N-NO ₂ ⁻ ·L ⁻¹)	0,41 ± 0,70	1,66 ± 1,26	0,43 ± 0,65	0,35 ± 1,00
Nitrogênio Amoniacal (N-NH ₄ ⁺ ·L ⁻¹)	7,37 ± 5,15	5,99 ± 4,27	9,80 ± 2,32	11,34 ± 3,07

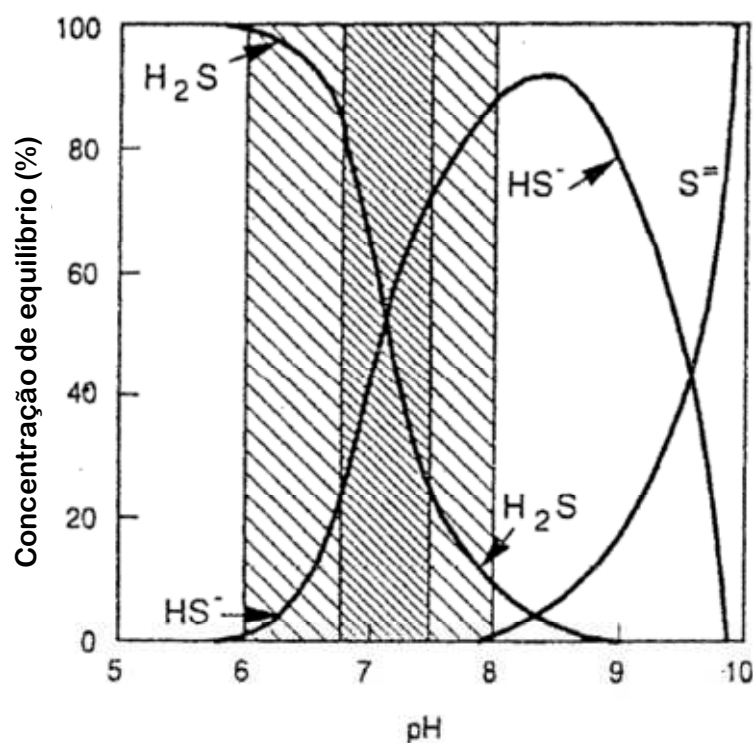


Figura 5.2 – Frações das três formas químicas do sulfeto, em função do pH do meio. Fonte: adaptado de Speece (1983).

Foi constatada formação de sulfato nas duas relações molares $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ estudadas. Porém, a recuperação de sulfato, em relação à concentração de sulfeto adicionada, diferiu entre as duas condições. Para a relação $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ de 1,6 (estequiométrica, fase I) os resultados apresentaram uma maior tendência à totalidade de recuperação do enxofre na forma de sulfato; já para a relação $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ de 0,8 (excesso de doador de elétrons, fase II) a formação de sulfato foi abaixo da esperada (Figura 5.3). Este padrão de resultados não foi totalmente constante, e alguns resultados apresentaram discrepância com relação às tendências citadas anteriormente. A inconstância de alguns resultados nas análises de sulfato pode ter sua explicação no acúmulo deste composto no meio reacional, já que não era consumido, sendo apenas produzido – ao contrário de sulfeto, nitrito e nitrato, que eram completamente eliminados do meio reacional ao longo de um ciclo. Desta forma, alguns resultados revelaram produção excessiva de sulfato, com recuperação maior do que o inicialmente adicionado como sulfeto, o que pode ser reflexo do acúmulo citado. Ainda assim, as tendências descritas para a recuperação de sulfato nas diferentes condições são visíveis na Figura 5.3.

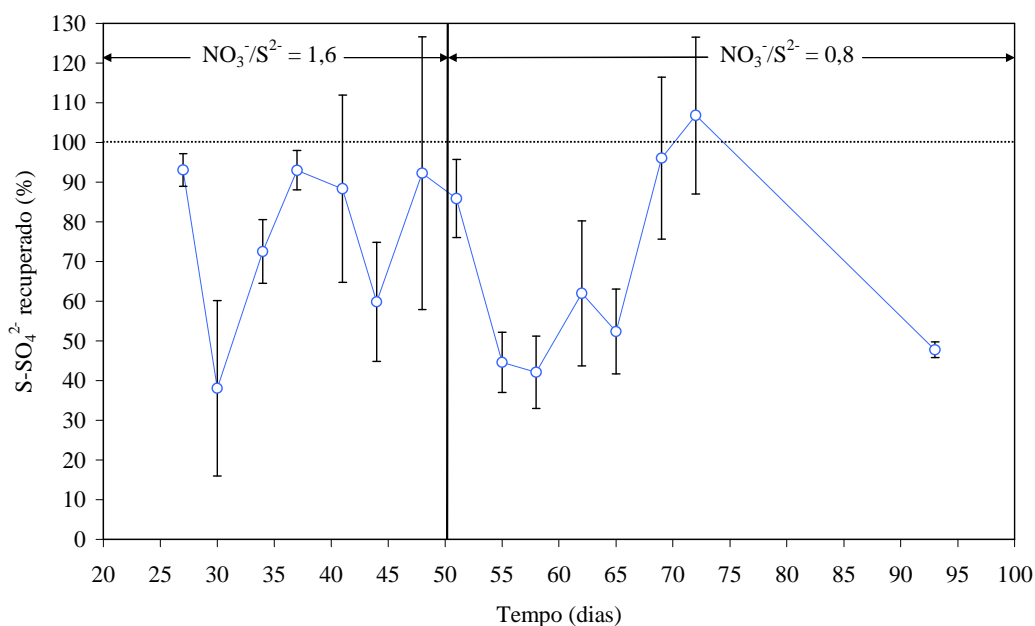


Figura 5.3 – Enxofre recuperado na forma de sulfato, após oxidação do sulfeto adicionado, durante operação com nitrato como receptor de elétrons na primeira etapa. Legenda: (○) valores obtidos. As barras verticais representam o desvio padrão das triplicatas.

As tendências observadas não foram reforçadas pelos valores médios apresentados na Tabela 5.1, devido às inconstâncias na produção de sulfato relatadas anteriormente. A porcentagem média de recuperação de sulfato foi, ainda assim, menor na fase II, em comparação à fase I. Tais diferenças de comportamento foram evidenciadas mais fortemente por fenômenos visuais ocorridos após aumento da concentração de sulfeto adicionado. A partir do início da fase II, foi observada a presença de partículas esbranquiçadas no lodo, e o líquido passou a se tornar amarelado ou esbranquiçado ao longo dos ciclos. Isto pode ser indicativo da formação de enxofre elementar, que usualmente provoca estas alterações.

A baixa recuperação de enxofre na forma de sulfato durante a fase II, aliada aos fenômenos visuais descritos, sugere fortemente a formação de intermediários do ciclo do enxofre no processo. Embora não se possa afirmar com exatidão qual o composto formado, é provável que o intermediário principal tenha sido enxofre elementar. Estes resultados estão de acordo com os obtidos nos estudos de Beristain-Cardoso et al. (2006), que afirmam que, na presença de excesso de sulfeto como doador de elétrons na desnitrificação autotrófica, ocorre oxidação parcial deste composto a enxofre elementar. Estes autores, em etapa similar de excesso de doadores de elétrons, também observaram alteração da coloração do meio reacional, que se tornou esbranquiçado, indicando a formação de enxofre elementar, e não detectaram produção de sulfato. Observações semelhantes foram feitas também nos estudos

de Krishnakumar e Manilal (1999), Kleerebezem e Mendez (2002), Reyes-Avila et al. (2004) e Manconi et al. (2007).

Com relação aos compostos de nitrogênio, inicialmente os reatores apresentaram bom desempenho na remoção de nitrato, sem geração de nitrito na fase I (Figuras 5.4 e 5.5). Este comportamento era esperado, já que a relação molar $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ de 1,6 aplicada foi considerada estequiométrica para desnitrificação autotrófica com oxidação de sulfeto a sulfato e, portanto, teoricamente as concentrações dosadas de sulfeto e nitrato eram suficientes para remoção de ambos os compostos. Entretanto, após cerca de 35 dias de operação, os reatores passaram a sofrer instabilidade e a desnitrificação tornou-se incompleta. Consequentemente, houve acúmulo de valores incrementais de nitrito ao final dos ciclos, alcançando, em média, $4 \text{ mg N-NO}_2^- \cdot \text{L}^{-1}$, e a remoção de nitrato também foi afetada pontualmente.

Isto ocorreu provavelmente devido à dificuldade em se estabelecer exatamente a estequiometria necessária ao completo consumo de sulfeto e nitrato. Primeiramente, embora a relação $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ estequiométrica adotada tenha sido 1,6, outros estudos apresentam valores discordantes para esta relação. Kleerebezem e Mendez (2002) obtiveram, para desnitrificação autotrófica com oxidação de sulfeto a sulfato, relação molar $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ experimental de 1,3, enquanto Beristain-Cardoso et al. (2006) obtiveram os valores de 1,45 a 1,58. Já Campos et al. (2008) propuseram a relação $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ de 1,2 como ótima, nas mesmas condições, e Manconi et al. (2007), embora considerassem a relação $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ estequiométrica igual a 1,6, aplicaram a relação $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ ótima de 0,8 a 0,9 para bom desempenho do processo. Além disso, no presente estudo as dificuldades de dosagem precisa de nitrato através de seringas, aliadas aos problemas já mencionados de controle da concentração de sulfeto, acabaram por estabelecer imprecisões nos valores de $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ reais. Um fator de elevada importância neste quesito é o fenômeno correspondente ao equilíbrio dinâmico da fração de sulfeto presente no meio líquido e no *headspace*, o que tornou variável a concentração de sulfeto disponível para os microrganismos e, consequentemente, também variável a relação $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ a cada instante.

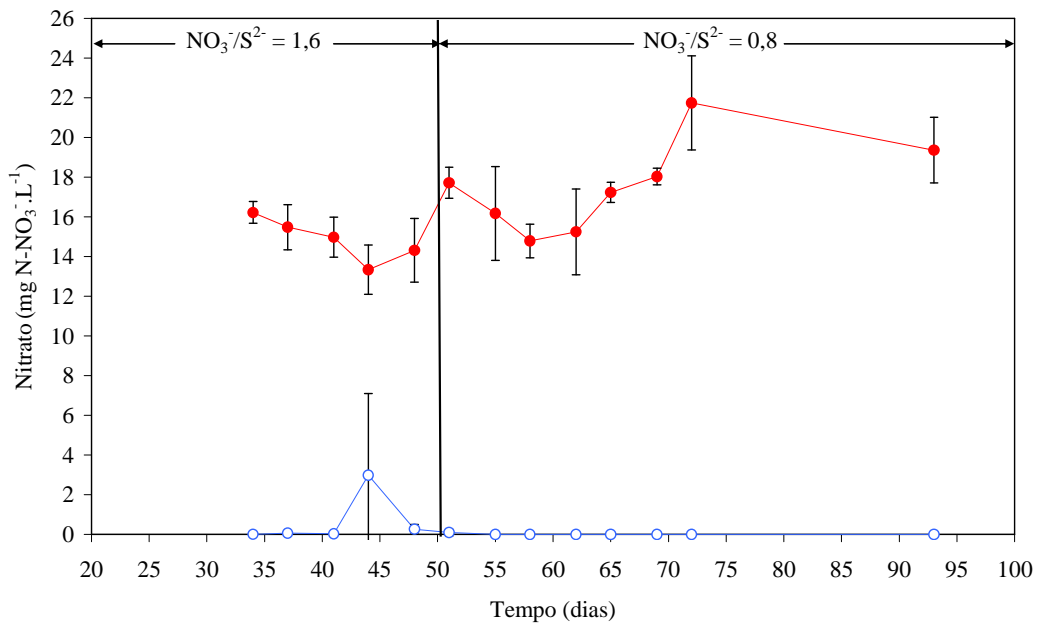


Figura 5.4 – Concentração de nitrato ao início e final dos ciclos durante operação com nitrato como receptor de elétrons na primeira etapa. Legenda: (●) início do ciclo; (○) final do ciclo. As barras verticais representam o desvio padrão das triplicatas.

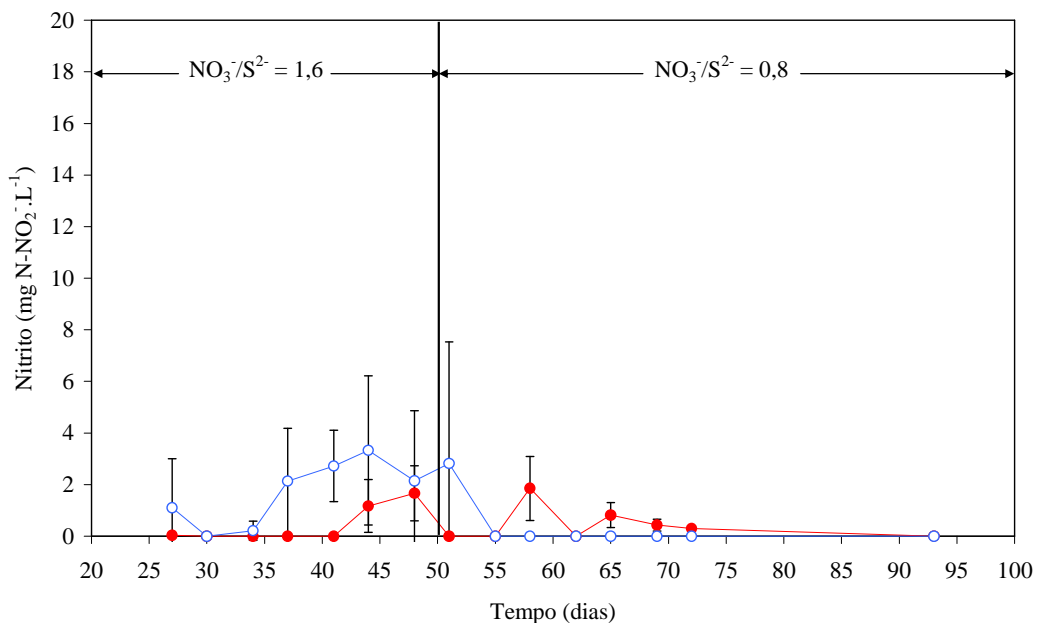


Figura 5.5 – Concentração de nitrito ao início e final dos ciclos durante operação com nitrato como receptor de elétrons na primeira etapa. Legenda: (●) início do ciclo; (○) final do ciclo. As barras verticais representam o desvio padrão das triplicatas.

Os fatos apresentados contribuíram, portanto, para a limitação da quantidade necessária de doadores de elétrons para a desnitrificação autotrófica. O acúmulo de nitrito ocorre, nestas condições, como consequência direta, já que a redução de nitrato a nitrito é etapa inerente ao processo de desnitrificação. Em situações de limitação de doadores de

elétrons, a desnitrificação pode ser interrompida em etapa intermediária, gerando nitrito ao invés de nitrogênio gasoso, o que foi constatado também por Manconi et al. (2007).

A relativa estabilidade inicial dos reatores com relação à desnitrificação completa pode ser justificada pela presença de residual orgânico no lodo de inóculo, que pode ter sido utilizado como fonte alternativa de doadores de elétrons, promovendo a remoção total dos compostos oxidados de nitrogênio. Entretanto, depois de exauridas as fontes alternativas de doadores de elétrons, o processo passou a depender exclusivamente da presença de sulfeto como doador de elétrons e, com vista nos problemas descritos anteriormente, as relações $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ necessárias não foram alcançadas, resultando em desnitrificação parcial.

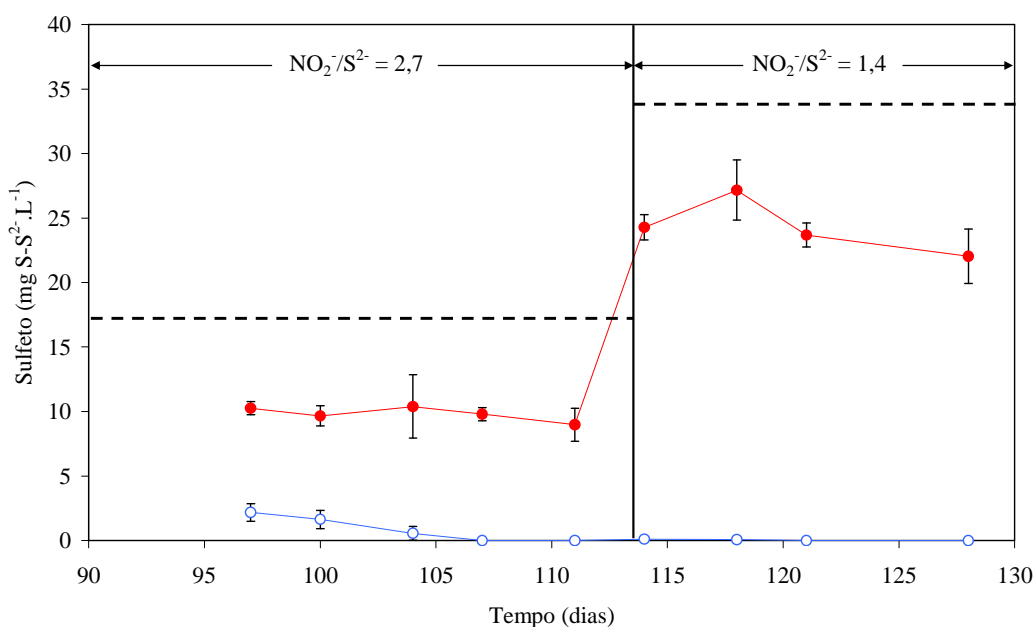
O acúmulo de nitrito descrito motivou a opção por dobrar a concentração de sulfeto adicionada, resultando na relação $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ de 0,8 aplicada na fase II. Desta forma, estabeleceu-se uma condição de excesso de doadores de elétrons, com relação à estequiometria teórica considerada. Esta alteração resultou na retomada da desnitrificação completa, com consumo total de nitrato e nitrito de maneira totalmente estável até o final da operação com nitrato como receptor de elétrons (Figuras 5.4 e 5.5). Isto reforça a hipótese de que a geração sucessiva de nitrito na fase anterior foi provocada pela ausência de doadores de elétrons suficientes para a desnitrificação autotrófica, o que foi solucionado com o aumento da concentração de sulfeto.

O comportamento do nitrogênio amoniacal foi relativamente estável ao longo desta etapa do experimento. A variação da concentração entre o início e o final dos ciclos foi pouco significativa, não ultrapassando $3 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$, em média.

A operação dos reatores usando nitrito como receptor de elétrons produziu resultados bastante semelhantes aos encontrados na operação usando nitrato. Os parâmetros médios obtidos estão apresentados na Tabela 5.2. Durante toda a operação nesta nova fase, como era esperado, houve consumo completo de sulfeto, mesmo quando dosado em excesso (Figura 5.6). Mais uma vez, as discussões feitas anteriormente a respeito das diferenças entre valores teóricos e reais de concentração de sulfeto obtidos no experimento são válidas, e para efeito das considerações estequiométricas e de recuperação de enxofre na forma de sulfato, os valores teóricos foram tomados como verdadeiros.

Tabela 5.2 – Resultados médios obtidos na operação com nitrito como receptor de elétrons, na primeira etapa.

Parâmetro	$\text{NO}_2^-/\text{S}^{2-} = 2,7$ (fase III)		$\text{NO}_2^-/\text{S}^{2-} = 1,4$ (fase IV)	
	Início do Ciclo	Final do Ciclo	Início do Ciclo	Final do Ciclo
pH	7,49 ± 0,21	7,56 ± 0,27	7,42 ± 0,17	7,44 ± 0,08
Sulfeto (mg S-S ²⁻ .L ⁻¹)	9,82 ± 0,56	0,88 ± 0,99	24,29 ± 2,14	0,05 ± 0,06
Sulfato (mg S-SO ₄ ²⁻ .L ⁻¹)	30,64 ± 7,71	46,33 ± 12,13	22,59 ± 1,72	40,63 ± 3,48
Recuperação de S-SO ₄ ²⁻ (%)	92,29 ± 31,49		53,06 ± 11,04	
Nitrato (mg N-NO ₃ ⁻ .L ⁻¹)	0,30 ± 0,42	0,02 ± 0,05	0,09 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Nitrito (mg N-NO ₂ ⁻ .L ⁻¹)	18,33 ± 2,64	3,96 ± 5,46	21,19 ± 0,43	0,62 ± 1,19
Nitrogênio Amoniacal (N-NH ₄ ⁺ .L ⁻¹)	3,37 ± 1,13	2,81 ± 1,35	6,65 ± 1,07	7,12 ± 0,17

**Figura 5.6** – Concentração de sulfeto ao início e final dos ciclos durante operação com nitrito como receptor de elétrons na primeira etapa. Legenda: (●) início do ciclo; (○) final do ciclo; (---) concentrações teóricas adicionadas. As barras verticais representam o desvio padrão das triplicatas.

Da mesma forma que na fase anterior, foi observada formação de sulfato durante a operação com ambas as relações $\text{NO}_2^-/\text{S}^{2-}$ estudadas. Entretanto, no caso de nitrito como receptor de elétrons, a formação de compostos intermediários de enxofre ficou bem mais evidente ao se aplicar relação $\text{NO}_2^-/\text{S}^{2-}$ com excesso de doador de elétrons ($\text{NO}_2^-/\text{S}^{2-}$ de 1,4, fase IV) do que na fase com nitrato como receptor de elétrons (Figura 5.7). A recuperação de enxofre na forma de sulfato na operação com $\text{NO}_2^-/\text{S}^{2-}$ de 2,7 (fase III) chegou, em média, a 92%, enquanto na operação com $\text{NO}_2^-/\text{S}^{2-}$ de 1,4 atingiu somente 53% (Tabela 5.2). Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Krishnakumar e Manilal (1999), que relataram recuperação, como sulfato, de apenas 40 a 60% do enxofre adicionado como sulfeto, ao se

aplicar a desnitrificação autotrófica com limitação de nitrato, e consequente formação de enxofre elementar. Quando o nitrito foi utilizado como receptor de elétrons, os autores também obtiveram a mesma proporção de recuperação de enxofre como sulfato.

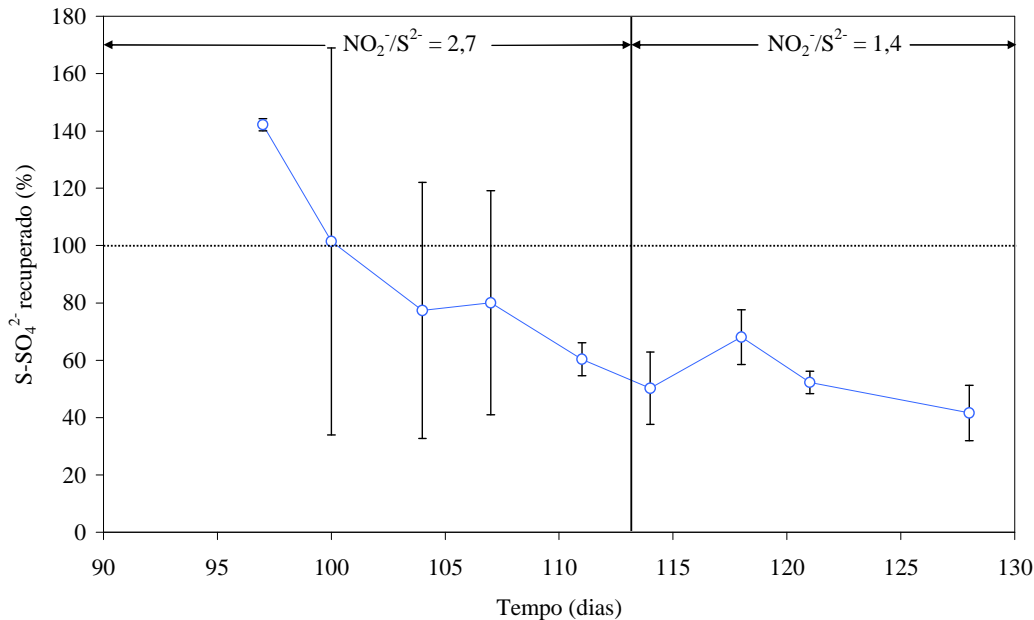


Figura 5.7 – Enxofre recuperado na forma de sulfato, após oxidação do sulfeto adicionado, durante operação com nitrito como receptor de elétrons na primeira etapa. Legenda: (○) valores obtidos. As barras verticais representam o desvio padrão das triplicatas.

O processo de desnitrificação autotrófica usando o par sulfeto-nitrito como doador-receptor de elétrons manteve-se estável, com consumo total de nitrito, por aproximadamente 10 dias e, de modo semelhante ao ocorrido na fase com nitrato como receptor, passou a sofrer instabilidade devido ao acúmulo de nitrito no sistema (Figura 5.8), na fase III. As causas deste fenômeno foram provavelmente as mesmas admitidas para a fase anterior, residindo principalmente nas dificuldades em estabelecer relações $\text{NO}_2^-/\text{S}^{2-}$ reais próximas à estequiométrica e à incerteza quanto a esta estequiometria. Entretanto, neste caso não houve desnitrificação incompleta com acúmulo de nitrito como intermediário, tal qual a fase anterior, e sim uma interrupção do consumo do próprio nitrito, já que o nitrato não era adicionado e em nenhum momento foi detectado. Após alterada a relação $\text{NO}_2^-/\text{S}^{2-}$ para 1,4 na fase IV, representando um excesso de sulfeto, o consumo de nitrito passou a ser total novamente, comprovando que a instabilidade foi realmente causada por limitação de doadores de elétrons.

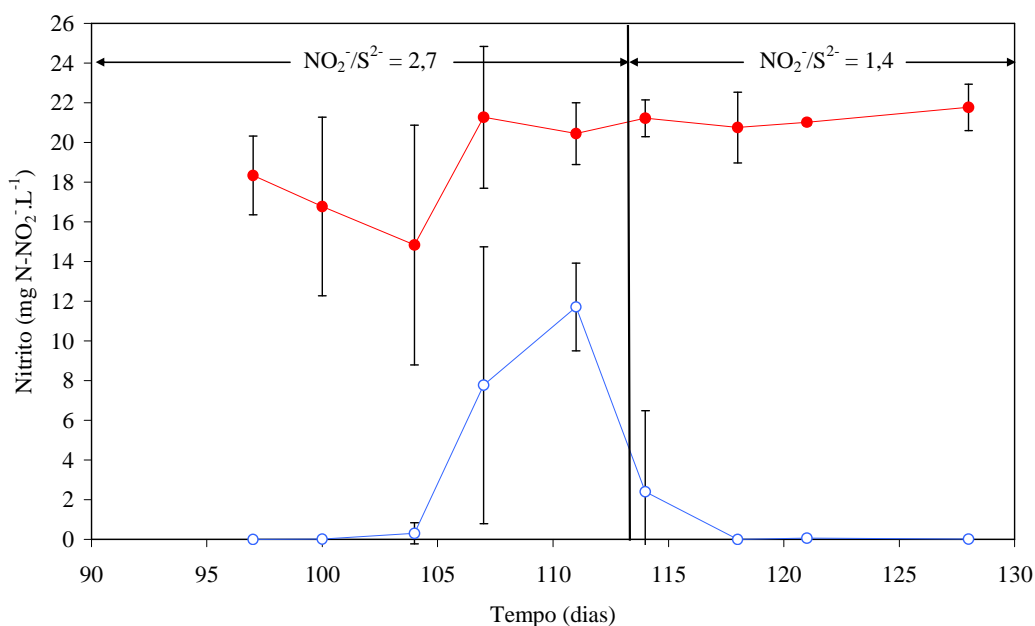


Figura 5.8 – Concentração de nitrito ao início e final dos ciclos durante operação com nitrito como receptor de elétrons na primeira etapa. Legenda: (●) início do ciclo; (○) final do ciclo. As barras verticais representam o desvio padrão das triplicatas.

5.1.2 Perfis temporais e parâmetros cinéticos

Foram realizados dois perfis temporais para cada reator, ao final da operação com relações $\text{NO}_x^-/\text{S}^{2-}$ de 0,8 e 1,4, para nitrato e nitrito como receptores de elétrons, respectivamente (fases II e IV). Estas condições operacionais foram escolhidas para realização dos perfis por proporcionarem estabilidade aos reatores e desnitrificação completa.

Modelos cinéticos de ordem zero e de primeira ordem foram testados para determinação do melhor ajuste aos dados experimentais. A Tabela 5.3 mostra os valores do coeficiente de determinação (R^2) obtidos para ambos os tipos de ajustes, para todas as triplicatas em todos os eventos de perfis.

Os modelos com melhor ajuste para os perfis usando nitrato como receptor de elétrons foram os de ordem zero (Tabela 5.3). Foi constatada diferença significativa entre os resultados obtidos para os diferentes eventos de perfis realizados. Houve também diferença significativa entre o comportamento das triplicatas, principalmente no segundo perfil realizado. O distanciamento entre os resultados das triplicatas foi gradualmente se intensificando ao longo dos meses de experimento, e pode ser explicado pela impossibilidade de se desenvolver reatores com comportamentos idênticos, mesmo mantidos sob as mesmas condições. Sendo o

estado temporário do reator consequência de um conjunto de modificações e adaptações sucessivas da comunidade microbiana presente em seu interior, qualquer eventualidade aleatória que altere minimamente a microbiota pode levar ao favorecimento ou desfavorecimento de um determinado grupo microbiano, definindo o comportamento futuro do reator. Este raciocínio, aplicado a uma série de reatores, indica que estes sistemas estão sujeitos a certa aleatoriedade de resultados, ainda que muitas vezes semelhantes. Desta forma, embora para o monitoramento dos reatores tenha sido considerada a média e o desvio padrão dos resultados sem perda significativa da qualidade dos dados, para o cálculo dos parâmetros cinéticos foi considerado cada reator em separado.

Tabela 5.3 – Valores de parâmetros cinéticos e coeficientes de determinação (R^2) obtidos nos perfis da primeira etapa, com diferentes tipos de ajuste.

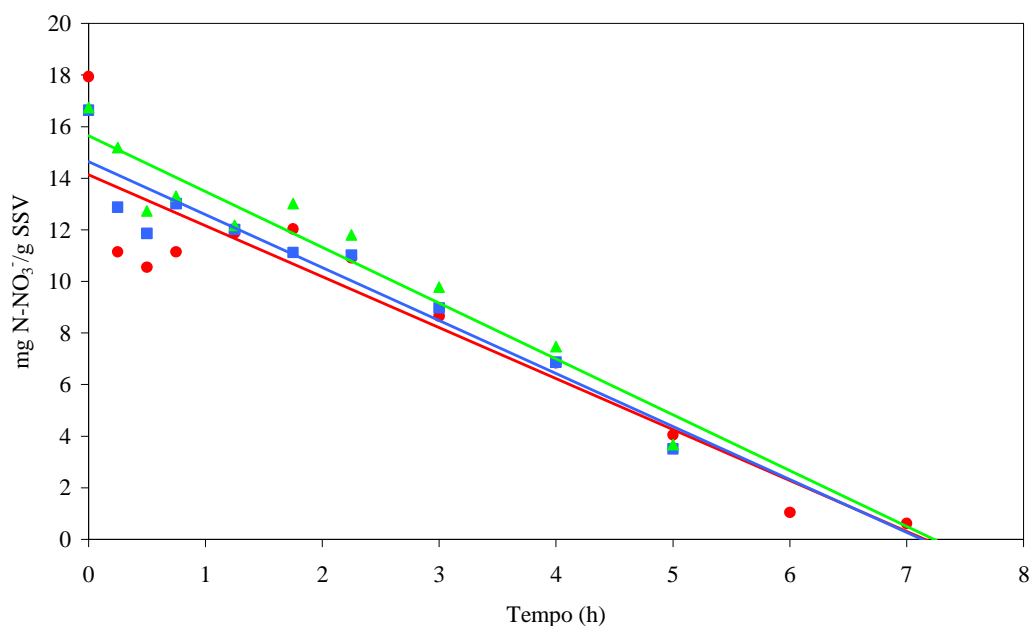
Fase	Perfil	Triplicata	Ordem Zero		Primeira Ordem	
			k'_0 ⁽¹⁾	R^2	k'_{ap} ⁽²⁾	R^2
II	1	1	1,975	0,872	0,406	0,840
		2	2,053	0,908	0,243	0,871
		3	2,163	0,922	0,243	0,857
	2	1	4,624	0,980	0,403	0,951
		2	6,756	0,988	2,252	0,730
		3	7,053	0,906	-	-
IV	1	1	2,368	0,841	0,087	0,899
		2	3,903	0,940	0,204	0,987
		3	5,019	0,942	0,500	0,810
	2	1	2,158	0,920	0,112	0,871
		2	2,306	0,930	0,246	0,922
		3	4,231	0,938	0,414	0,926

(1) ($\text{mg N}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{gSSV}^{-1}$)

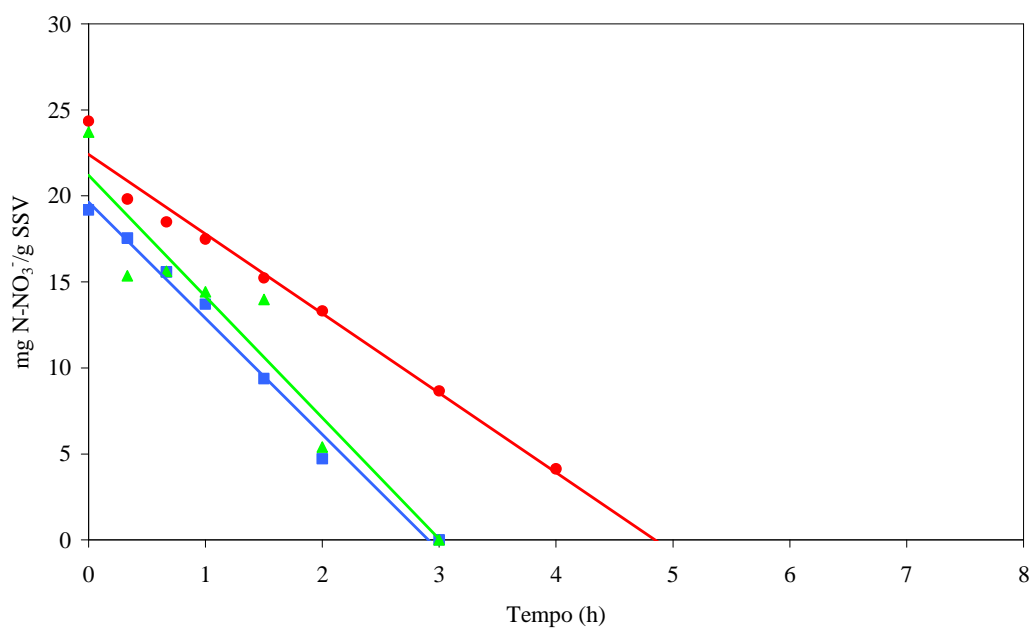
(2) (h^{-1})

(-) determinação não foi possível

Os resultados experimentais dos perfis temporais usando nitrato como receptor de elétrons estão apresentados nas Figuras 5.9a e 5.9b, juntamente com ajustes cinéticos de ordem zero. As velocidades específicas de consumo de nitrato obtidas no primeiro perfil foram 1,97; 2,05 e 2,16 $\text{mg N-NO}_3^- \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{gSSV}^{-1}$ para os reatores 1, 2 e 3, respectivamente, e, portanto, foram bastante próximas. Já para o segundo perfil, foram obtidos 4,62; 6,76 e 7,05 $\text{mg N-NO}_3^- \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{gSSV}^{-1}$, evidenciando as diferenças de comportamento entre os reatores neste perfil.



(a)



(b)

Figura 5.9 – Ajustes cinéticos para consumo de nitrato nos perfis 1 (a) e 2 (b) realizados usando nitrato como receptor de elétrons na primeira etapa. Legenda: (●) Reator 1; (■) Reator 2; (▲) Reator 3. As retas representam o melhor ajuste de ordem zero aos pontos dos perfis.

A obtenção de velocidades específicas de desnitrificação bem maiores no segundo perfil pode ser explicada pelo grau de adaptação do lodo de inóculo em cada um dos perfis. É provável que, à época do primeiro perfil, a biomassa ainda estivesse pouco adaptada ao processo de desnitrificação autotrófica, embora os microrganismos responsáveis pelo processo já estivessem presentes em número suficiente para o consumo completo do substrato no tempo de ciclo dos reatores. Os resultados do segundo perfil mostram que houve, na lacuna

de 20 dias entre os dois perfis, um incremento no grau de adaptação da biomassa, com obtenção de velocidades específicas superiores. Isto indica a progressiva modificação da comunidade microbiana ao longo do experimento, com a proliferação gradual dos microrganismos autotróficos de interesse no lodo heterotrófico adicionado inicialmente. O predomínio destes microrganismos autotróficos tende a dar-se de maneira lenta, devido à dificuldade em se eliminar a fração heterotrófica do lodo de inóculo, que apresentava grande diversidade inicial e que poderia estar se mantendo por endogenia. Desta forma, acredita-se que, mesmo à época do segundo perfil, a biomassa ainda não estivesse completamente enriquecida e que, caso esta etapa do experimento fosse mantida por mais tempo, os parâmetros cinéticos obtidos seriam ainda maiores.

O valor máximo de velocidade específica de desnitrificação obtido ($7,05 \text{ mg N-NO}_3^- \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{gSSV}^{-1}$) apresentou-se em faixa intermediária, quando comparado com os parâmetros cinéticos relatados na literatura. Por um lado, Beristain-Cardoso et al. (2006) obtiveram valor máximo inferior, de apenas $2,10 \text{ mg N-NO}_3^- \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{gSSV}^{-1}$. Por outro, alguns autores obtiveram valores bastante superiores. Reyes-Avila et al. (2004) estudaram a desnitrificação com três fontes de doadores de elétrons: somente sulfeto, sulfeto e acetato, e somente acetato. Estes autores obtiveram velocidades específicas de consumo de nitrato de $15,83 \text{ mg N-NO}_3^- \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{gSSV}^{-1}$ para sulfeto como doador de elétrons, valor bem inferior às duas outras condições, $45,83$ e $79,17 \text{ mg N-NO}_3^- \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{gSSV}^{-1}$, para sulfeto e acetato e somente acetato como doadores de elétrons, respectivamente. Já Manconi et al. (2007) obtiveram o valor de $24 \text{ mg N-NO}_3^- \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{gSSV}^{-1}$, superior ao obtido por Reyes-Avila et al. (2004).

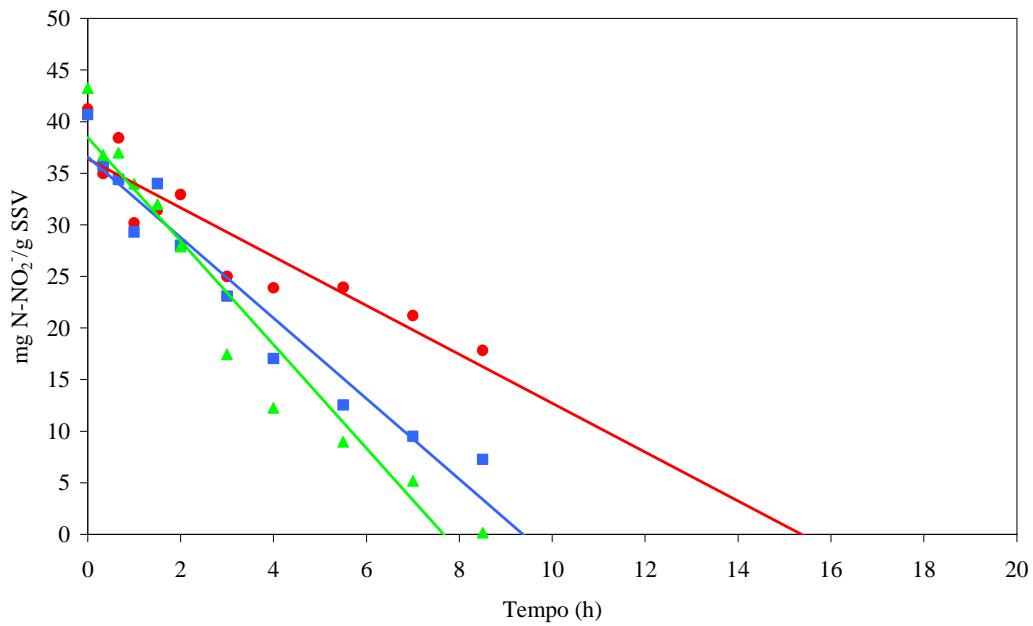
A gama variada de valores relatados na literatura pode encontrar sua justificativa na origem, enriquecimento e adaptabilidade do lodo de inóculo em cada experimento. Manconi et al. (2007) realizaram ensaios com inóculo aeróbio de sistema de lodos ativados tratando esgoto sanitário, enriquecido com cultura de *Thiobacillus denitrificans*, enquanto Reyes-Avila et al. (2004), Beristain-Cardoso et al. (2006), bem como os responsáveis pela presente pesquisa, utilizaram inóculo anaeróbio metanogênico. Além disso, Reyes-Avila et al. (2004) e Beristain-Cardoso et al. (2006) retiraram o inóculo para os ensaios cinéticos diretamente de reatores com atividade desnitrificante autotrófica, alimentados com meio sintético e operados por 60 e 300 dias, respectivamente, enquanto que, no presente estudo, o lodo de inóculo foi enriquecido nos mesmo reatores em que foram realizados os ensaios cinéticos, por um período de aproximadamente 95 dias. Todas estas características peculiares de cada experimento podem ter representado grande influência sobre os valores encontrados para os parâmetros cinéticos, visto que o grau de adaptação do inóculo ao processo de desnitrificação

autotrófica pode ter variado de acordo com o experimento. Assim, alguns estudos podem ter atingido grau de enriquecimento e adaptação do inóculo próximos ao máximo, enquanto outros não.

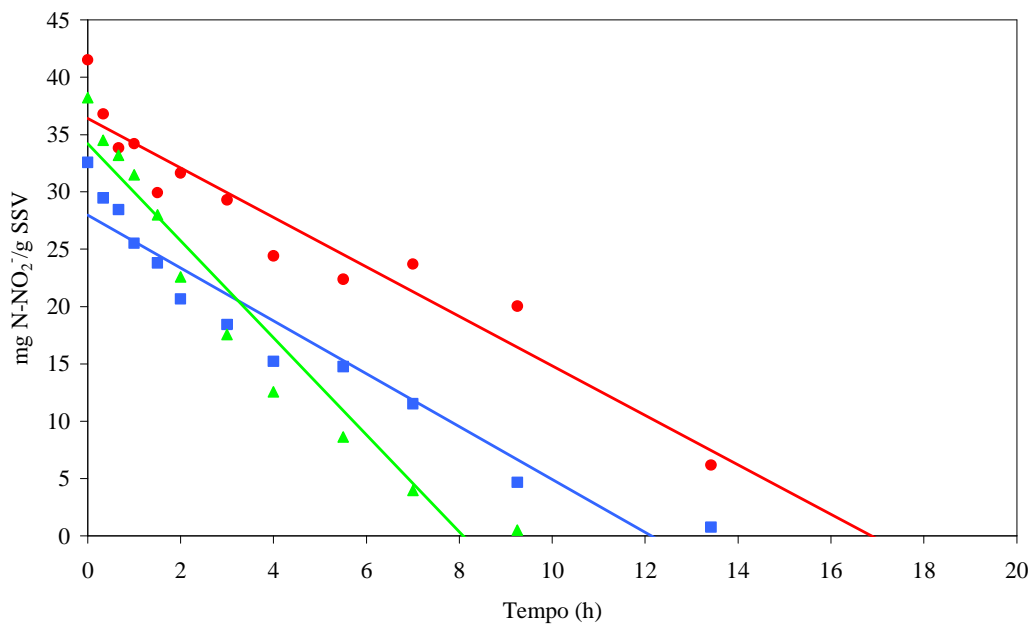
Foi detectado acúmulo temporário de nitrito nos reatores somente durante o primeiro perfil realizado. Este fenômeno foi também detectado por Krishnakumar e Manilal (1999), que realizaram estudos de desnitrificação autotrófica usando sulfeto como doador de elétrons, e uma mistura de nitrato e nitrito como receptores. Observaram que nitrato foi preferencialmente utilizado como receptor de elétrons, e o nitrito acumulou no sistema.

Os perfis temporais de consumo de nitrito revelaram decaimento linear semelhante ao observado usando nitrato como doador de elétrons e, portanto, permitem admitir que o processo ocorreu segundo cinética de ordem zero (Figuras 5.10a e 5.10b). Ainda assim, conforme pode ser observado na Tabela 5.3, os ajustes cinéticos de primeira ordem apresentaram coeficientes de determinação (R^2) similares ou, em alguns casos, até superiores aos obtidos para os ajustes de ordem zero. Isto ocorreu, em especial, para os perfil 1 das triplicatas 1 e 2 (Tabela 5.3). Entretanto, visto que nestes casos os ajustes de ordem zero também apresentaram valores de R^2 razoáveis, e que os parâmetros cinéticos de ordem zero apresentaram maior consistência entre as triplicatas, supõe-se que ajustes de ordem zero tenham sido os mais adequados também para nitrito como receptor de elétrons.

Os perfis foram realizados em duas datas, e as velocidades específicas de desnitrificação mantiveram-se nas mesmas faixas, ainda que tenha havido razoável diferença entre as triplicatas, conforme já discutido anteriormente. No primeiro perfil foram obtidas as velocidades específicas de 2,37; 3,90 e 5,02 $\text{mg N-NO}_2^- \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{gSSV}^{-1}$ para os reatores 1, 2 e 3, respectivamente. Já no segundo perfil, foram obtidos os valores de 2,16; 2,31 e 4,23 $\text{mg N-NO}_2^- \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{gSSV}^{-1}$ para os três reatores, na mesma ordem.



(a)



(b)

Figura 5.10 – Ajustes cinéticos para consumo de nitrito nos perfis 1 (a) e 2 (b) realizados usando nitrito como receptor de elétrons na primeira etapa. Legenda: (●) Reator 1; (■) Reator 2; (▲) Reator 3. As retas representam o melhor ajuste de ordem zero aos pontos dos perfis.

Os valores de velocidade específica de consumo de nitrito foram também mais baixos que os apresentados na literatura. Pérez et al. (2007) obtiveram, utilizando sulfeto-nitrito como o par doador-receptor de elétrons, velocidade específica de desnitrificação de $32 \text{ mg N-NO}_2^- \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{gSSV}^{-1}$. Neste caso, valem as considerações feitas anteriormente, para nitrato como

doador de elétrons, sobre origem, enriquecimento e adaptação do lodo de inóculo, que podem variar em diferentes experimentos.

Os parâmetros cinéticos obtidos para nitrito como receptor de elétrons foram um pouco mais baixos que os obtidos para nitrato. Enquanto para nitrato a velocidade máxima específica de desnitrificação foi de $7,05 \text{ mg N-NO}_3^- \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{gSSV}^{-1}$, para nitrito foi encontrado o valor de $5,02 \text{ mg N-NO}_2^- \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{gSSV}^{-1}$. Alguns autores relatam a preferência de utilização de nitrato em detrimento de nitrito pelos microrganismos. Krishnakumar e Manilal (1999) realizaram experimento para estudar a desnitrificação autotrófica utilizando sulfeto como doador de elétrons e uma mistura de nitrito e nitrato como receptores de elétrons, e verificaram acúmulo de nitrito, indicando a preferência citada. Campos et al. (2008) verificaram que a velocidade específica de consumo de nitrito foi 2,5 vezes menor do que de nitrato em seus experimentos, utilizando tiosulfato como doador de elétrons. Em contrapartida, Mahmmod et al. (2007) relataram melhor desempenho do processo com nitrito como receptor de elétrons, e justificaram este comportamento com base na maior reatividade deste composto frente ao nitrato. Não foi, entretanto, o que foi observado no presente estudo, e os resultados obtidos foram mais coerentes com os apresentados por Krishnakumar e Manilal (1999) e Campos et al. (2008).

A prevalência de modelos de ordem zero para o consumo de nitrato e nitrito nos experimentos pode ter sua explicação nas relações entre a constante de saturação do substrato (K_S) e a concentração do substrato (C_S). Partindo-se da expressão cinética de Monod, apresentada na equação (5.1), da relação entre velocidade de crescimento celular (r_X) e velocidade de consumo de substrato (r_S) (equação (5.2)), e da relação entre r_X e a concentração de microrganismos (C_X) (equação (5.3)) pode-se chegar à equação (5.4), fazendo-se as devidas substituições.

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{C_S}{K_S + C_S} \quad \dots\dots(5.1)$$

$$r_X = Y_{X/S} \cdot r_S \quad \dots\dots(5.2)$$

$$r_X = \mu \cdot C_X \quad \dots\dots(5.3)$$

$$r_S = \frac{C_X}{Y_{X/S}} \cdot \mu_{\max} \cdot \frac{C_S}{K_S + C_S} = r_{\max} \cdot \frac{C_S}{K_S + C_S} \quad \dots\dots(5.4)$$

Nas equações (5.1) a (5.4), μ é a velocidade específica de crescimento celular (T^{-1}), μ_{\max} é a velocidade máxima específica de crescimento celular (T^{-1}), C_S é a concentração de substrato ($M_{\text{substrato}} \cdot L^{-3}$), K_S é a constante de saturação do substrato ($M_{\text{substrato}} \cdot L^{-3}$), sendo definida como o valor de C_S no qual μ atinge metade de μ_{\max} , r_X é a velocidade de crescimento celular ($M_{\text{células}} \cdot L^{-3} \cdot T^{-1}$), $Y_{X/S}$ é o fator de crescimento celular por unidade de massa de substrato ($M_{\text{células}} \cdot M_{\text{substrato}}^{-1}$), r_S é a velocidade de consumo de substrato ($M_{\text{substrato}} \cdot L^{-3} \cdot T^{-1}$), C_X é a concentração de microrganismos ($M_{\text{células}} \cdot L^{-3}$) e r_{\max} é a velocidade máxima de consumo de substrato ($M_{\text{substrato}} \cdot L^{-3} \cdot T^{-1}$).

Pode-se também expressar a velocidade de consumo de substrato em termos específicos, conforme a equação (5.5).

$$r'_S = \frac{r_S}{C_X} = \frac{\mu_{\max}}{Y_{X/S}} \cdot \frac{C_S}{K_S + C_S} = r'_{\max} \cdot \frac{C_S}{K_S + C_S} \quad \dots\dots(5.5)$$

Na equação (5.5) r'_S é a velocidade específica de consumo de substrato ($M_{\text{substrato}} \cdot M_{\text{células}}^{-1} \cdot T^{-1}$) e r'_{\max} é a velocidade máxima específica de consumo de substrato ($M_{\text{substrato}} \cdot M_{\text{células}}^{-1} \cdot T^{-1}$). De acordo com esta equação, r'_S é igual a r'_{\max} e independe da concentração de substrato (processo de ordem zero) quando a relação $(C_S/(K_S+C_S))$ é próxima da unidade. Para que isto ocorra, o valor de C_S deve ser muito superior ao de K_S , ou seja, as concentrações de substrato no processo estudado devem ser bastante elevadas, quando comparadas à constante de saturação do substrato. Este deve ter sido o caso para os experimentos realizados, mostrando que as concentrações de nitrato ou nitrito utilizadas estavam em um patamar suficiente para que não interferissem nas suas velocidades de consumo.

Moraes (2009) obteve resultados diferentes com relação à ordem do modelo cinético, em experimentos semelhantes, mas contendo biomassa imobilizada em espuma de poliuretano. Os melhores ajustes, neste caso, ocorreram para modelos cinéticos de primeira ordem, e este fenômeno foi atribuído à resistência à transferência de massa externa e intraparticular. Concluiu, entretanto, que caso esta resistência fosse suprimida, a cinética poderia seguir modelos de ordem zero.

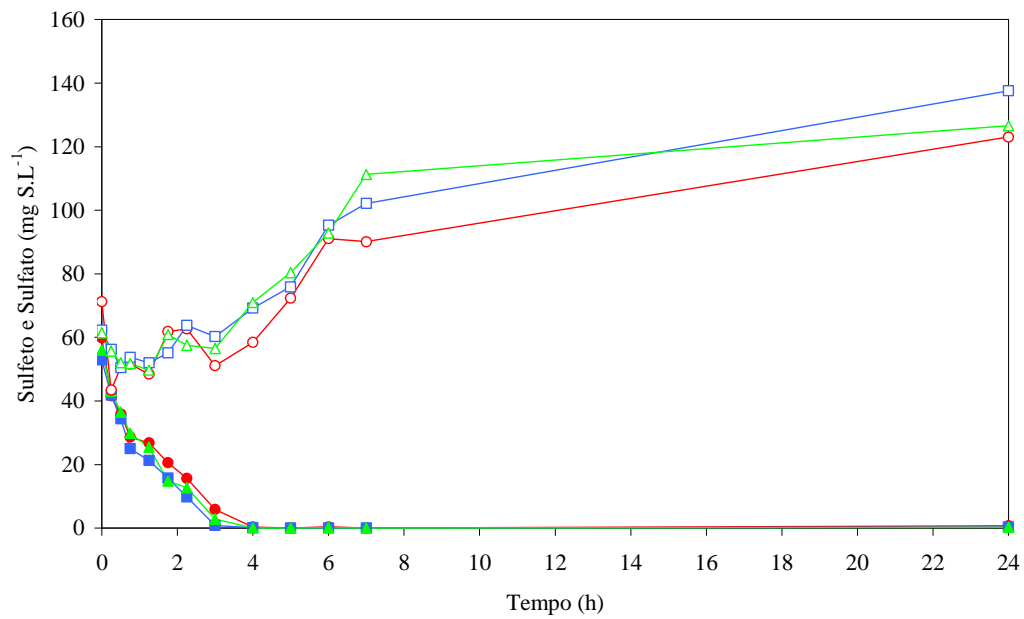
Os perfis temporais de sulfeto e sulfato evidenciaram um comportamento interessante dos compostos do ciclo do enxofre no processo. Conforme se pode observar nas Figuras 5.11a e 5.11b, o consumo total de sulfeto ocorreu, para todos os reatores, muito antes do consumo

completo de nitrato, e a produção de sulfato deu-se gradualmente ao longo de todo o ciclo. Fenômeno semelhante ocorreu ao se aplicar nitrito como receptor de elétrons. Isto sugere a formação de compostos intermediários do ciclo do enxofre no processo. Este mecanismo foi proposto por Reyes-Avila et al. (2004), que afirmam que a oxidação do sulfeto no processo ocorre em duas etapas. Na primeira etapa, mais rápida, o sulfeto se oxida a enxofre elementar e tiosulfato, enquanto na segunda etapa, mais lenta, o enxofre elementar e o tiosulfato formados anteriormente se oxidam a sulfato. Além disso, Beristain-Cardoso et al. (2006) atribuem o rápido consumo de sulfeto também à formação de polissulfetos no sistema. No presente estudo não se sabe, entretanto, a razão da contínua produção de sulfato até o final do ciclo, mesmo após a desnitrificação completa nas primeiras horas de ciclo.

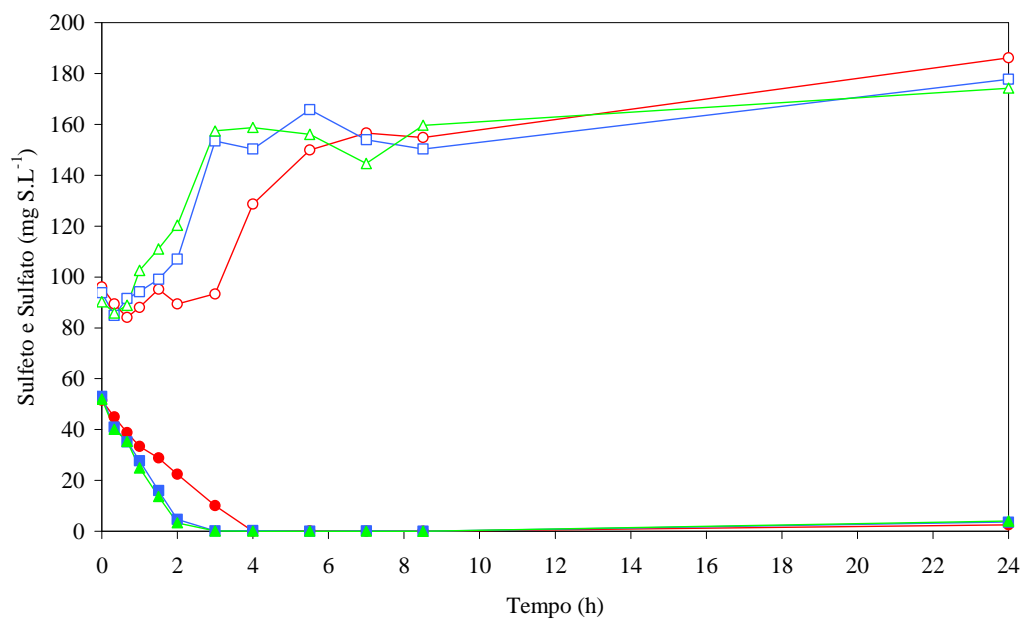
5.1.3 Ensaio abióticos

Os ensaios abióticos realizados para verificar o comportamento dos compostos de interesse na ausência de atividade biológica mostraram variação irrelevante de nitrato, nitrito, nitrogênio amoniacal e sulfato ao longo do ciclo de 24 horas. Porém, o sulfeto apresentou variação considerável, com consumo de aproximadamente 12 e 13%, para nitrato e nitrito como receptores de elétrons, respectivamente.

Estes resultados são, provavelmente, consequência da volatilização para o *headspace* e da oxidação química, utilizando como receptor de elétrons o residual de oxigênio, que eventualmente poderia estar presente nos frascos. Resultados semelhantes foram encontrados por Reyes-Avila et al. (2004), que obtiveram consumo de até 17% do sulfeto adicionado em ensaios abióticos e concluíram que, como o consumo de sulfeto foi muito mais rápido nos ensaios com presença de biomassa, o processo de desnitrificação foi dado principalmente devido à atividade biológica com o uso de sulfeto.



(a)



(b)

Figura 5.11 – Perfis temporais 1 (a) e 2 (b) de concentração de sulfeto e sulfato, usando nitrato como receptor de elétrons na primeira etapa. Legenda: (\bullet) Sulfeto - Reator 1; (\blacksquare) Sulfeto - Reator 2; (\blacktriangle) Sulfeto - Reator 3; (\circ) Sulfato - Reator 1; (\square) Sulfato - Reator 2; (\triangle) Sulfato - Reator 3.

5.1.4 Análise morfológica da comunidade microbiana

Os exames microscópicos realizados ao longo da primeira etapa do experimento revelaram grande quantidade de bacilos nas amostras retiradas. Estes bacilos, em geral, tinham tamanhos menores do que 5 μm , e se apresentaram aglomerados (Figura 5.12a) e dispersos (Figura 5.12b). Estas morfologias foram acompanhadas de outras, como filamentos (Figura 5.12c) e cocos (Figura 5.12d), além de células tipicamente encontradas em lodos heterotróficos, como as semelhantes a *Methanosarcina sp.* (Figura. 5.12e). A presença de microrganismos associados à atividade heterotrófica mostra que, mesmo após meses de experimento em condições autotróficas, houve persistência de alguns grupos originários do lodo de inóculo. Estes grupos provavelmente se mantiveram nos reatores devido à endogenia, caracterizando a cultura estudada como mixotrófica.

Foram detectadas também formas semelhantes a grânulos de enxofre elementar na operação dos reatores com excesso de doadores de elétrons, substanciando ainda mais os resultados obtidos com relação à menor recuperação de enxofre na forma de sulfato, descritos no item 5.1.1. Nestas condições, segundo a literatura e os resultados obtidos anteriormente, a oxidação do sulfeto pelos microrganismos desnitrificantes autotróficos pode ser parcial, gerando intermediários como enxofre elementar. Os grânulos de enxofre elementar apareceram nas microscopias como pontos luminosos próximos a agrupamentos de bacilos (Figura 5.12f).

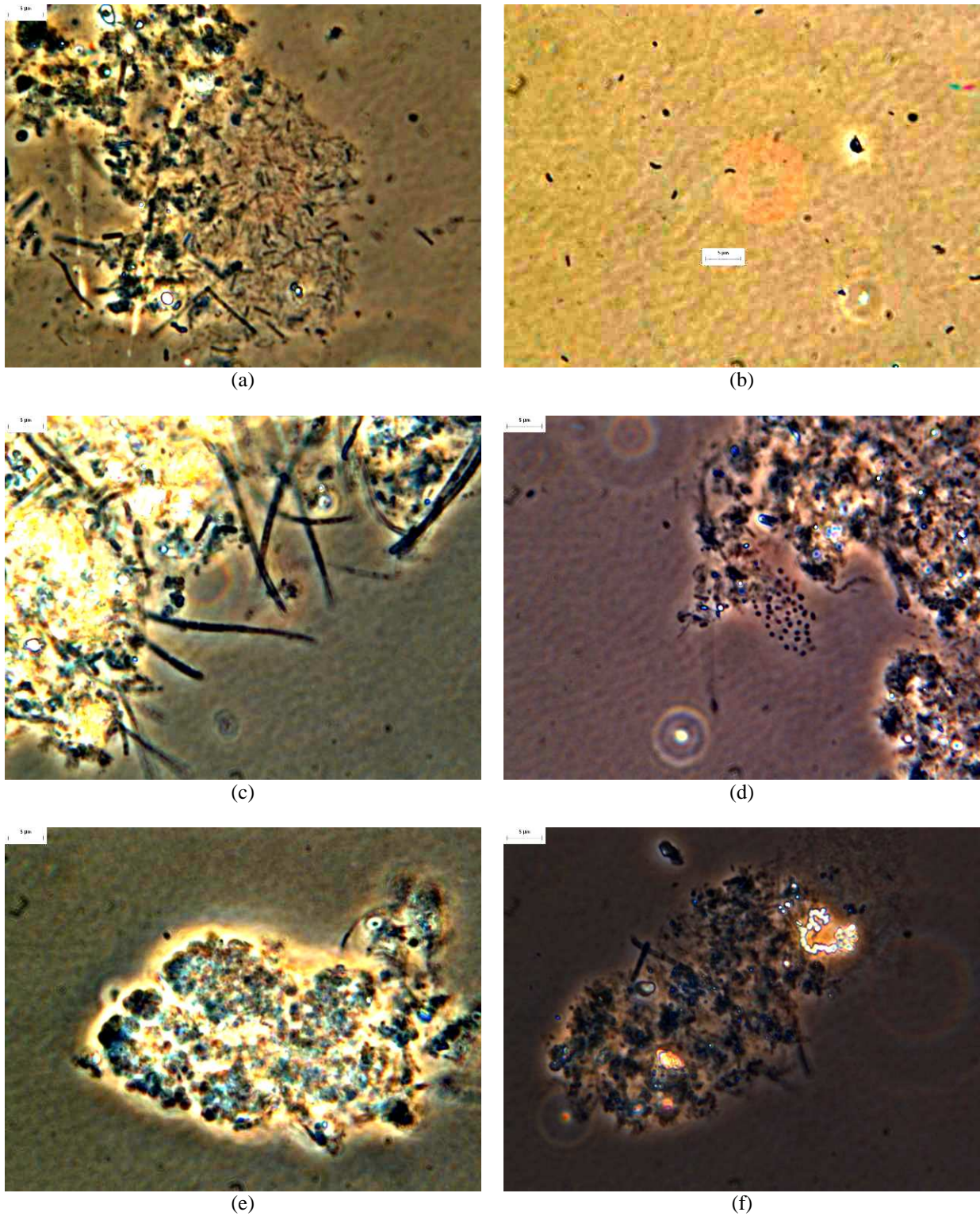


Figura 5.12 – Microscopias ópticas de contraste de fase de amostras dos ensaios em frascos da primeira etapa: (a) aglomerado de bacilos; (b) bacilos dispersos; (c) conjunto de filamentosas; (d) agrupamento de cocos; (e) morfologias semelhantes a *Methanosarcina sp.*; (f) formas luminosas semelhantes a enxofre elementar.

5.1.5 Análise filogenética da comunidade microbiana

Os resultados de DGGE obtidos comparativamente para o inóculo e para amostra do lodo após operação dos reatores (Figura 5.13) mostram que houve alteração na diversidade presente inicialmente no inóculo.

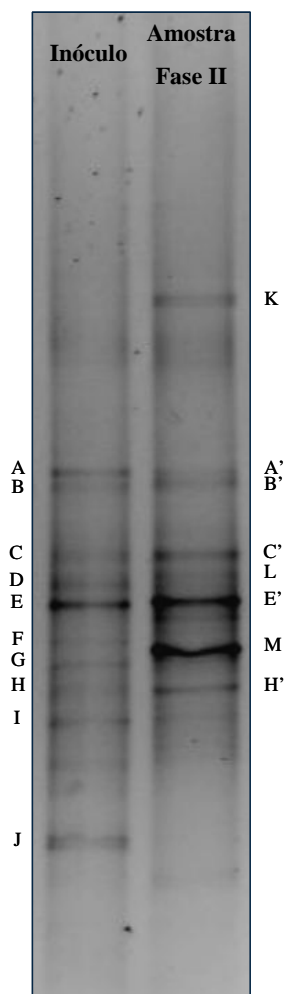


Figura 5.13 – Gel de DGGE obtido para amostras do inóculo e após operação com nitrato como receptor de elétrons na primeira etapa.

Observa-se que o número de bandas presente no inóculo foi reduzido de dez para oito bandas após aplicação do processo em estudo. Este fato era esperado, já que o lodo de inóculo tinha características heterotróficas e metanogênicas, e as condições impostas aos reatores foram autotróficas, desfavorecendo os grupos dependentes de fontes orgânicas de carbono. Cinco bandas foram suprimidas (D, F, G I e J), de acordo com a Figura 5.13. Contudo, cinco bandas permaneceram (A, B, C, E e H), mostrando a persistência de alguns grupos com

relação à alteração das características nutricionais. As três bandas restantes (K, L e M), presentes na amostra dos reatores, provavelmente correspondem a grupos que foram favorecidos com as condições autotróficas aplicadas ao sistema.

A permanência de bandas do inóculo original condiz com outros resultados obtidos no experimento, que revelam persistência de atividade heterotrófica no lodo dos reatores, mesmo após meses de operação. Estas evidências foram constatadas na determinação de parâmetros cinéticos, que aumentaram ao longo da operação, indicando biomassa ainda em processo de enriquecimento. Além disso, os exames microscópicos apresentados anteriormente mostraram morfologias típicas do lodo de inóculo ao final da operação dos reatores, o que contribui ainda mais para reforçar os resultados observados no DGGE.

Os resultados obtidos através de clonagem e sequenciamento da amostra composta obtida dos reatores em triplicata na primeira etapa da pesquisa indicaram uma grande diversidade de filos na comunidade microbiana. No total, 58 clones foram seqüenciados, pertencendo a maioria deles ao filo *Firmicutes*, conforme pode ser observado na Figura 5.14.

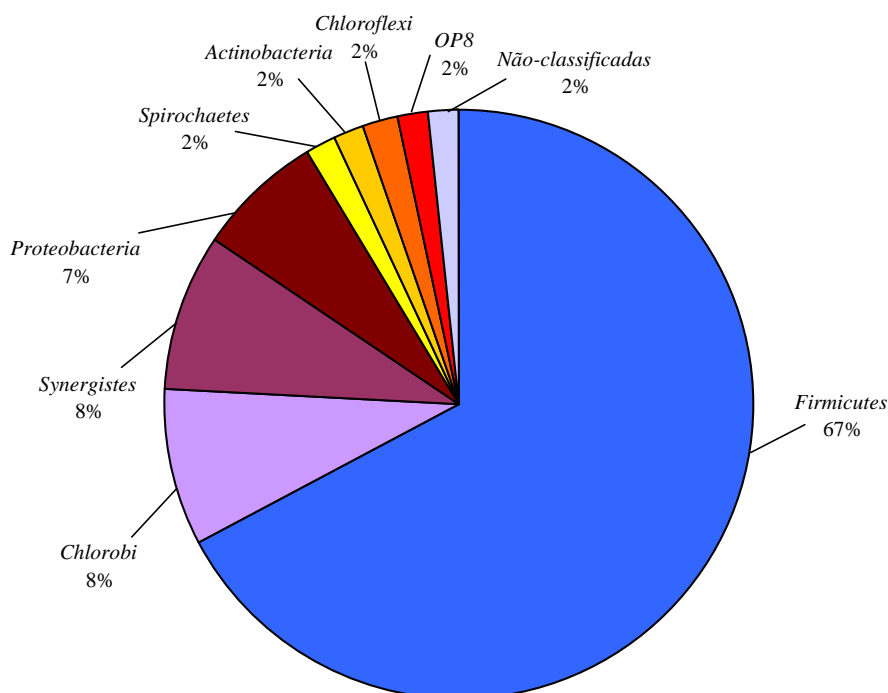


Figura 5.14 – Diversidade de filos obtida através das análises de biologia molecular para os reatores em batelada operados na primeira etapa da pesquisa.

As bactérias pertencentes ao filo *Firmicutes* são muito resistentes a adversidades, sobrevivendo em condições extremas (FERNÁNDEZ et al., 2008) e, portanto, sua presença

pode estar relacionada à progressão transitória heterotrófica-autotrófica ocorrendo nos reatores. Estes microrganismos estavam provavelmente presentes no inóculo original e persistiram durante a operação.

O número de clones pertencentes a outros filos foi menor. Embora contendo apenas quatro clones (7% do total), o filo *Proteobacteria* é particularmente importante para este estudo. Muitas bactérias englobadas neste filo são ecologicamente fundamentais para os ciclos do carbono, nitrogênio e enxofre (KERSTERS et al., 2006), e ele compreende microrganismos responsáveis pela desnitrificação autotrófica.

Como parte da análise da estrutura da comunidade microbiana, uma árvore filogenética foi construída, destacando-se os filos *Firmicutes* e *Proteobacteria* (Figura 5.15). A árvore mostra que alguns clones pertencentes ao filo *Firmicutes* são relacionados ao gênero *Bacillus*, o que está de acordo com o grande número de organismos semelhantes a bacilos detectados nas análises morfológicas através de microscopia óptica. *Bacillus pantothenicus* (D16275) é uma bactéria formadora de esporos e consumidora de ácido láctico, segundo Suzuki e Yamasato (1994), sendo, portanto, um microrganismo heterotrófico resistente que estava provavelmente presente inicialmente no inóculo, e que permaneceu durante a operação dos reatores nas condições desnitrificantes autotróficas impostas.

Os clones pertencentes ao filo *Proteobacteria* foram associados aos ciclos do nitrogênio e enxofre. De acordo com a Figura 5.15, um clone foi semelhante a *Desulfobacca acetoxidans* (AF002671), microrganismo consumidor de acetato e redutor de sulfato contido na ordem *Deltaproteobacteria* (OUDE ELFERINK et al., 1999). A presença de bactérias redutoras de sulfato é esperada nos reatores operados, visto que o sulfato era produzido pela oxidação do sulfeto na desnitrificação, e a matéria orgânica utilizada como doador de elétrons era provavelmente obtida através do decaimento endógeno. Um clone semelhante a microrganismos desnitrificantes heterotróficos como *Sterolibacterium denitrificans* (AJ306683) (TARLERA; DENNER, 2003) também foi obtido.

E, finalmente, dois clones se assemelharam muito a *Thiobacillus denitrificans* (NC-007404), uma bactéria desnitrificante quimiolitotrófica, anaeróbia facultativa, pertencente à ordem *Betaproteobacteria* (BELLER et al., 2006). As identidades com a espécie, obtidas para estes clones, foram de 98,9 e 99,6%. A presença de clones semelhantes a *T. denitrificans* reforça os resultados obtidos até então com relação à ocorrência da desnitrificação autotrófica, e indica que este microrganismo teve um papel importante na comunidade microbiana atuante nos reatores.

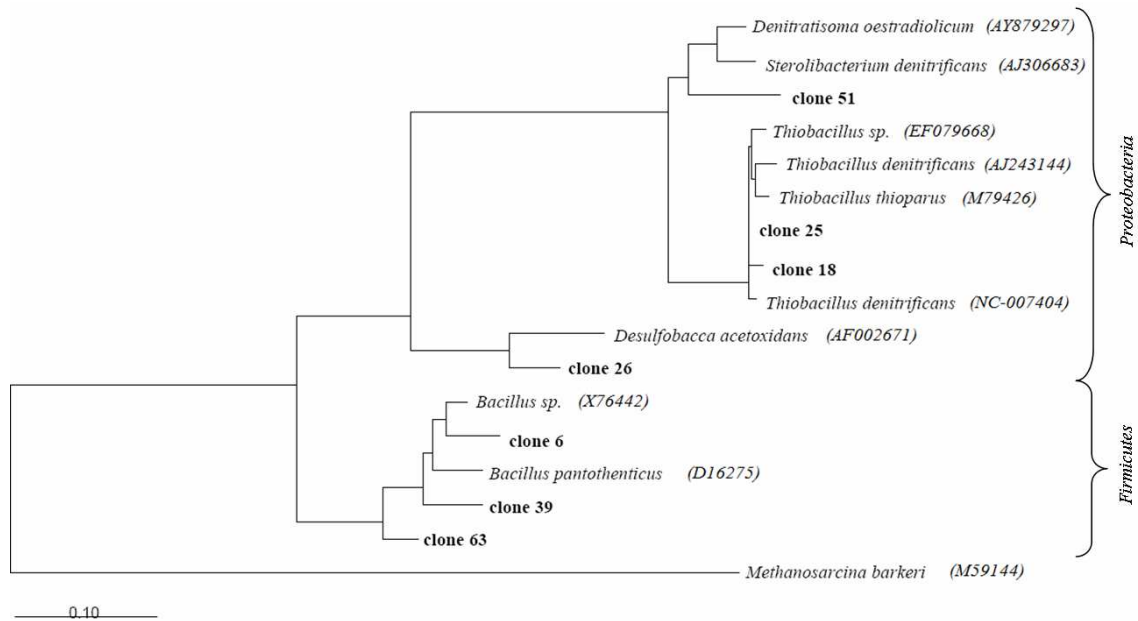


Figura 5.15 – Árvore filogenética (parcimônia interativa) contendo clones relacionados a membros dos filos *Firmicutes* e *Proteobacteria*, construída através do software ARB a partir de uma árvore existente de máxima semelhança.

Ainda que a desnitrificação autotrófica fosse o foco do trabalho, constata-se que a comunidade microbiana permaneceu mixotrófica. A coexistência de microrganismos autotróficos e heterotróficos é inevitável neste caso, já que o inóculo original era predominantemente heterotrófico. Assim, microrganismos persistentes puderam se manter nos sistemas com auxílio da matéria orgânica fornecida pelo decaimento endógeno, o que foi também observado por Koenig et al. (2005). Estes resultados indicam que a desnitrificação autotrófica é versátil e pode coexistir com atividade heterotrófica, sendo capaz de ser estabelecida em sistemas onde outros processos também ocorrem.

5.2 Segunda etapa

5.2.1 Monitoramento dos reatores auxiliares

Os reatores R1 e R2 foram operados por cerca de 280 dias e se mantiveram estáveis por todo o período. O efluente produzido por R1 apresentou características típicas de esgotos sanitários pré-tratado anaerobiamente, conforme apresentado na Tabela 5.4. A produção de sulfeto foi abaixo da esperada, já que a redução completa do sulfato presente no afluente não foi constantemente observada. Ainda assim, a correção das concentrações de sulfeto na alimentação de R3 foi feita considerando-se redução completa do sulfato presente no afluente de R1 (Tabela 4.4). Foi observada nitrificação estável e completa durante toda a operação de R2 (Tabela 5.4).

Tabela 5.4 – Resultados médios de monitoramento obtidos durante a operação dos reatores R1 e R2, na segunda etapa da pesquisa.

Parâmetro	R1		R2	
	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente
pH	6,4 ± 0,2	7,0 ± 0,2	7,8 ± 0,2	8,0 ± 0,2
Sulfeto (mg S-S ²⁻ .L ⁻¹)	2,3 ± 2,4	19,2 ± 4,1	-	-
Sulfato (mg S-SO ₄ ²⁻ .L ⁻¹)	35,8 ± 6,6	15,5 ± 5,9	-	-
Nitrogênio amoniacal (mg N-NH ₄ ⁺ .L ⁻¹)	9,6 ± 8,9	46,8 ± 7,1	46,9 ± 5,3	2,0 ± 1,5
Nitrato (mg N-NO ₃ ⁻ .L ⁻¹)	-	-	0,2 ± 0,4	40,2 ± 4,2
Nitrito (mg N-NO ₂ ⁻ .L ⁻¹)	-	-	0,0 ± 0,1	0,1 ± 0,1
DQO (mg O ₂ .L ⁻¹)	560,3 ± 110,5	79,9 ± 24,9	-	-
Eficiência de remoção de DQO (%)	85,7 ± 4,4		-	-
Alcalinidade total (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	124,6 ± 28,0	334,5 ± 32,4	-	-

(-) não determinado

As relações molares NO₃⁻/S²⁻ médias aplicadas em cada condição foram determinadas através dos parâmetros médios obtidos na operação de R1 e R2. Desta forma, para as fases I, IV, VI e VII, a relação molar NO₃⁻/S²⁻ obtida foi de 2,1, um pouco maior que a estequiométrica (1,6). Na fase II, a relação foi reduzida para 0,8, metade do valor previsto pela estequiometria, resultando em excesso de doadores de elétrons para a desnitrificação

autotrófica. Já para a fase III, a relação $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ aplicada foi de 4,6, muito maior do que o valor estequiométrico, resultando em um grande excesso de receptores de elétrons.

5.2.2 Monitoramento do reator desnitrificante

O reator R3 foi operado por 240 dias, e em todo o período foi observada desnitrificação com consumo de sulfeto e produção de sulfato, conforme apresentado nas Figuras 5.16 e 5.17. O pH se manteve estável na faixa de 8,0-8,5, devido à adição de sulfeto de sódio, de caráter bastante alcalino, e não foi observada variação significativa das concentrações de nitrogênio amoniacal (Tabela 5.4). Não houve alteração significativa nos valores de alcalinidade total entre o afluente e o efluente, e nitrito foi detectado no efluente apenas em baixas concentrações (Figura 5.17). As eficiências de desnitrificação, consumo de sulfeto e produção de sulfato, entretanto, foram afetados consideravelmente pelas mudanças de condição de alimentação em cada fase.

Os resultados obtidos durante a operação do reator R3 nas fases I, II e III mostraram diferenças de desempenho bastante evidentes ao se variar, na alimentação, as proporções de mistura de efluentes de R1 e R2. Na fase I, foram observados consumo completo de sulfeto e eficiência média de desnitrificação de 92%, após curto período de partida do sistema (Tabela 5.5). Sulfato foi produzido estequiometricamente, de acordo com a concentração de sulfeto presente no afluente, conforme apresentado na Figura 5.16. Portanto, pode-se afirmar que a desnitrificação autotrófica ocorria no reator, e que a complexidade do meio existente no reator foi favorável ao desenvolvimento dos microrganismos quimiolitotróficos responsáveis pelo processo. Nesta fase, o reator R3 foi alimentado com uma composição de 40% de efluente nitrificado e 60% de efluente pré-tratado anaerobiamente (não-nitrificado), resultando em relação molar $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ de 2,1, um pouco maior do que a prevista pela estequiometria. Teoricamente, o sulfeto presente no afluente não era suficiente como fonte de doadores de elétrons para se atingir a eficiência de desnitrificação observada, sugerindo que fontes alternativas de doadores de elétrons estavam envolvidas no processo. Esta hipótese foi testada na fase V, conforme discutido posteriormente.

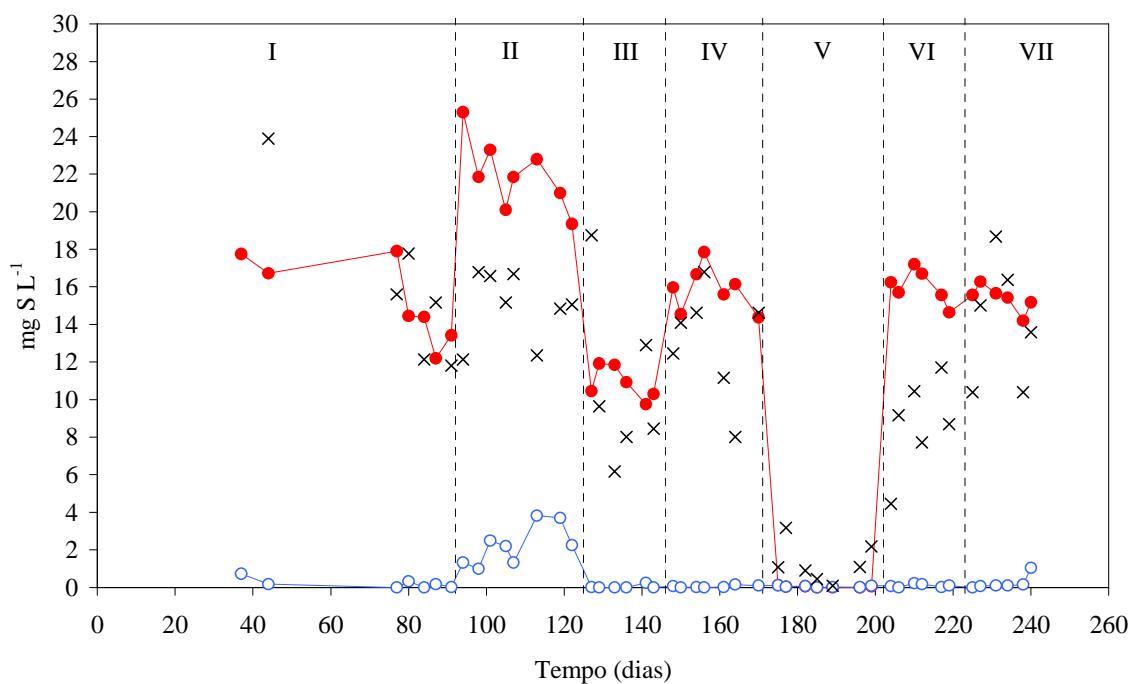


Figura 5.16 – Resultados obtidos durante a operação do reator R3 na segunda etapa, com relação aos compostos de enxofre, para cada condição de alimentação: (●) sulfeto afluente; (○) sulfeto efluente; (X) produção de sulfato.

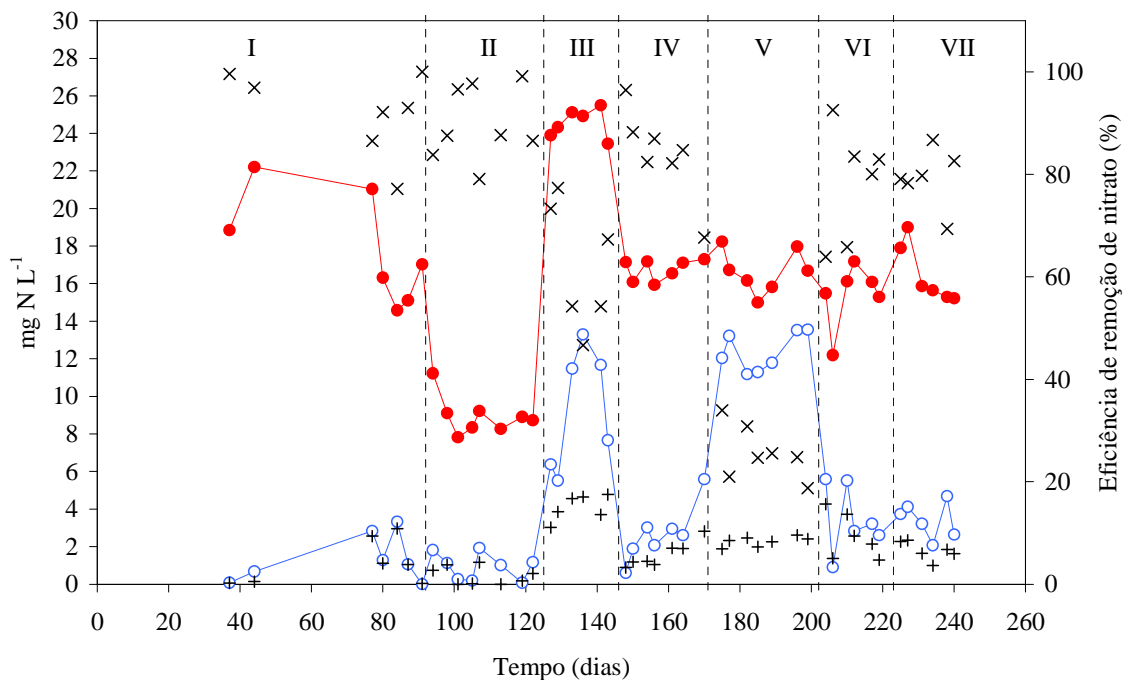


Figura 5.17 – Resultados obtidos durante a operação do reator R3 na segunda etapa, com relação aos compostos de nitrogênio, para cada condição de alimentação: (●) nitrato afluente; (○) nitrato efluente; (+) nitrato efluente; (X) eficiência de remoção de nitrato.

Na fase II, o efluente nitrificado foi reduzido para 20% da composição da alimentação de R3, resultando em relação molar $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ de 0,8 e, portanto, em excesso de sulfeto como doador de elétrons. As eficiências de desnitrificação obtidas permaneceram altas, em torno de 90%, mas o sulfeto não foi completamente consumido, conforme mostrado na Figura 5.16 e Tabela 5.5. Além disso, a produção de sulfato foi ligeiramente abaixo da esperada, de acordo com a estequiometria, indicando oxidação parcial de sulfeto a compostos intermediários de enxofre. Resultados semelhantes foram obtidos por Beristain-Cardoso et al. (2006), com relação à menor recuperação de sulfato e formação de intermediários, quando excesso de sulfeto como doador de elétrons era fornecido para a desnitrificação autotrófica.

Tabela 5.5 – Resultados médios medidos no efluente e eficiências de remoção obtidas para o reator R3, na segunda etapa da pesquisa.

Fase	pH	Eficiência de remoção de sulfeto (%)	Eficiência de remoção de nitrato (%)	Nitrogênio amoniacal (mg N-NH ₄ ⁺ .L ⁻¹)	DQO (mg O ₂ .L ⁻¹)	Eficiência de remoção de DQO (%)	Alcalinidade total (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)
I	8,4	98,7 ± 1,5	92,2 ± 8,1	24,9 ± 2,6	18,4 ± 18,3	42,0 ± 51,0	1481,0 ± 75,3
II	8,4	89,6 ± 5,0	89,8 ± 7,2	29,8 ± 3,9	49,0 ± 6,6	41,4 ± 7,4	1347,9 ± 105,7
III	8,4	99,5 ± 1,0	62,2 ± 12,2	15,1 ± 1,8	48,0 ± 11,5	14,7 ± 15,0	1371,0 ± 70,2
IV	8,3	99,7 ± 0,4	84,1 ± 8,7	22,5 ± 2,0	35,9 ± 8,5	44,6 ± 10,4	1447,5 ± 45,3
V	8,2	-	25,7 ± 5,3	22,8 ± 0,4	33,5 ± 9,5	21,2 ± 14,8	1433,5 ± 17,9
VI	8,2	99,4 ± 0,5	78,1 ± 11,1	20,9 ± 2,5	37,7 ± 11,8	45,4 ± 21,5	900,0 ± 69,3
VII	8,0	98,4 ± 2,6	79,3 ± 5,8	22,8 ± 1,8	18,1 ± 15,5	73,2 ± 16,3	373,5 ± 53,9

(-) não determinada neste caso

A fase III foi caracterizada pela operação com grande excesso de receptores de elétrons, já que o efluente nitrificado foi aumentado para 60% da composição de alimentação de R3, resultando em relação molar $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ de 4,6. Neste caso, os doadores de elétrons presentes não foram suficientes para promover desnitrificação completa de todo o nitrato fornecido, e a eficiência de desnitrificação reduziu-se para o valor médio de 62%. As concentrações de nitrito no efluente de R3 foram mais altas nesta fase, em decorrência da desnitrificação incompleta.

Comparando-se os dados de monitoramento obtidos nas fases I, II e III, fica evidente que a composição da alimentação de R3 que resultou em melhor desempenho foi a referente à fase I, correspondendo a uma mistura de 40% de efluente nitrificado e 60% de efluente pré-tratado anaerobiamente. Nesta fase, foram obtidas altas eficiências de desnitrificação, aliadas

ao consumo completo de sulfeto e produção estequiométrica de sulfato. Além disso, o bom desempenho observado foi obtido com relação molar $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ de 2,1, maior que a estequiometria, enquanto outros estudos aplicaram relações menores que 1,6 para obtenção de resultados satisfatórios (KLEEREBEZEM; MENDEZ, 2002; BERISTAIN-CARDOSO et al., 2006). Como esta condição de alimentação foi a que produziu melhores resultados, foi mantida nos estudos subsequentes realizados nas fases IV, V, VI e VII.

Durante a operação na fase IV, o reator R3 foi alimentado sob as mesmas condições que na fase I, exceto com relação à fonte adicional de micronutrientes, que foi suprimida. Os resultados obtidos foram semelhantes aos observados na fase I (Figuras 5.16 e 5.17), e a eficiência de desnitrificação média foi de 84%, ligeiramente inferior à obtida na fase I. Ainda assim, o reator R3 apresentou bom desempenho, indicando que a fonte adicional de micronutrientes não era necessária, já que a fonte inicial adicionada ao esgoto sanitário sintético era suficiente para suprir as necessidades dos três reatores. Estes resultados sugerem que os microrganismos desnitrificantes autotróficos não demandam condições especiais com relação aos micronutrientes. Portanto, para os estudos realizados nas fases V, VI e VII, a fonte adicional de micronutrientes não foi mais suplementada.

A fonte de sulfeto adicionada nas outras fases foi retirada na fase V, com o objetivo de se observar a ocorrência de desnitrificação com uso de outras fontes de doadores de elétrons. As eficiências de desnitrificação nesta fase decaíram para 26%, em média (Figura 5.17), evidenciando que a maior parte da desnitrificação observada nas etapas anteriores foi relativa à atividade autotrófica usando sulfeto como doador de elétrons. A matéria orgânica presente no afluente provavelmente não foi utilizada como fonte principal de elétrons para a desnitrificação residual detectada, conforme discutido posteriormente. Desta forma, a desnitrificação residual foi mantida no reator possivelmente por atividade endogênica dos microrganismos heterotróficos. Estes resultados mostram que a comunidade quimiolitotrófica responsável pelo processo em estudo é muito versátil, coexistindo com microrganismos heterotróficos em um ambiente de maior complexidade. Esta conclusão é reforçada pelo fato de que, quando o sulfeto foi novamente suplementado nas fases VI e VII, a desnitrificação autotrófica foi, de imediato, detectada novamente, associada a altas eficiências.

Quando o fornecimento de alcalinidade foi reduzido pela metade, na fase VI, e totalmente suprimido, na fase VII, o desempenho do reator R3 permaneceu satisfatório, com remoção média de nitrato de cerca de 80%, conforme apresentado na Tabela 5.5. A redução na fonte de alcalinidade não provocou efeitos significativos no tamponamento do meio, já que não foram observadas grandes mudanças nos valores de pH. Porém, como a alcalinidade era a

fonte de carbono inorgânico para os microrganismos quimiolitotróficos, a redução de sua concentração no meio pode ter resultado na ligeira diminuição das eficiências de desnitrificação, em comparação com as obtidas nas fases I e IV. Ainda assim, a remoção de nitrato foi alta nestas fases, indicando que o processo de desnitrificação aplicado não é restritivo em relação ao fornecimento de alcalinidade, podendo ser estabelecido de maneira estável e satisfatória em condições de alcalinidade próximas às encontradas em esgotos domésticos pré-tratados anaerobiamente.

As concentrações de DQO medidas situaram-se em faixas bastante reduzidas, inferiores a $100 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$, tanto nas amostras brutas quanto filtradas, que apresentaram resultados similares, já que não foram detectadas concentrações significativas de sólidos no afluente e efluente. As concentrações obtidas de DQO filtrada estão apresentadas na Figura 5.18, e mostram que houve redução nesta medida entre o afluente e o efluente em todas as condições. Entretanto, observa-se que nas fases III e V, a redução foi apenas marginal e a concentração no afluente foi mais baixa que nas outras condições. Isto mostra que, provavelmente, o consumo de DQO estava relacionado à diferença de concentração de sulfeto existente entre o afluente e efluente em cada ponto, já que o sulfeto presente no afluente contribui para o aumento do valor da DQO. Assim, em vista das baixas variações constatadas e o efeito do sulfeto na DQO, não se pode afirmar se houve consumo significativo da matéria orgânica residual presente na alimentação.

Foram também feitas medidas de potencial de óxido-redução (pOR) durante o monitoramento de R3. Os valores de pOR observados para o afluente variaram de -400 a -200 mV (Figura 5.19), situando-se em faixa indicativa de meio altamente reduzido, devido ao potencial redutivo do sulfeto adicionado. No início do experimento, os valores observados no afluente eram próximos de -400 mV, e foram lentamente aumentando, permanecendo, ao final da operação, na faixa de -200 a -250 mV. Não se sabe, porém, se isto foi causado por alterações nas características da alimentação, ou se por imprecisões do potenciômetro utilizado para medição. A única exceção a este comportamento ocorreu durante a fase V, em que não foi adicionado sulfeto e, portanto, os valores de pOR detectados foram positivos, da ordem de +40 mV.

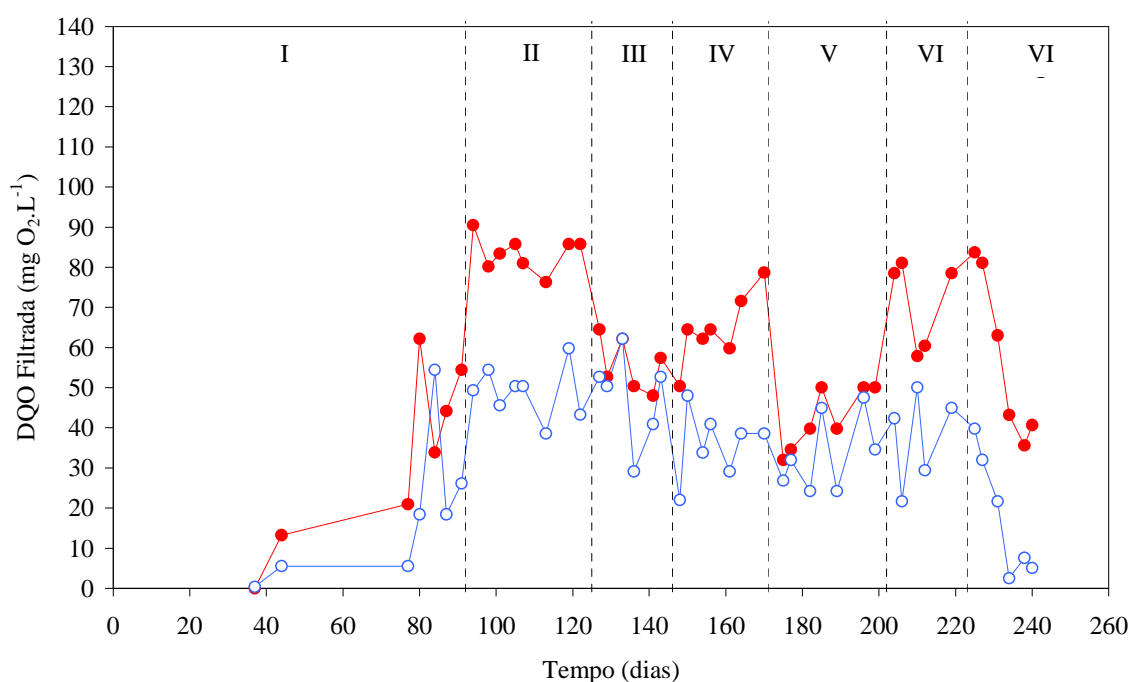


Figura 5.18 – Resultados de DQO filtrada obtidos durante a operação do reator R3 na segunda etapa, para cada condição de alimentação. Legenda: (●) afluente; (○) efluente.

No efluente de R3, os valores médios de pOR observados foram, nas fases com relação $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ próxima à estequiométrica (I, IV, VI e VII), ligeiramente negativos e próximos a zero, o que indica neutralização do potencial redutivo do sulfeto e do potencial oxidante do nitrato, que eram ambos consumidos quase em sua totalidade nestas condições. Já na fase II, em que havia excesso de sulfeto como doador de elétrons, sem consumo completo, foram detectados no efluente valores de pOR muito negativos, entre -200 e -250 mV, já que o potencial redutor do sulfeto neste caso não foi completamente eliminado através da oxidação deste composto.

Valores positivos de pOR no efluente foram detectados nas fases III e V. Na primeira, havia escassez de sulfeto como doador de elétrons, que era, portanto, consumido sem desnitrificação completa. Desta forma, foi eliminado o composto com potencial redutor (sulfeto), mas permaneceu o composto com potencial oxidante (nitrato), o que explica os valores positivos da ordem de +30 mV no efluente. Já no segundo caso, sulfeto não era adicionado e, portanto, tanto o afluente como o efluente apresentaram valores positivos. Em ambas as condições, ao ocorrer ausência de sulfeto, pode ter havido contribuição também da microaerofilia para a obtenção de valores positivos de pOR no efluente, devido à recirculação aplicada ao reator R3.

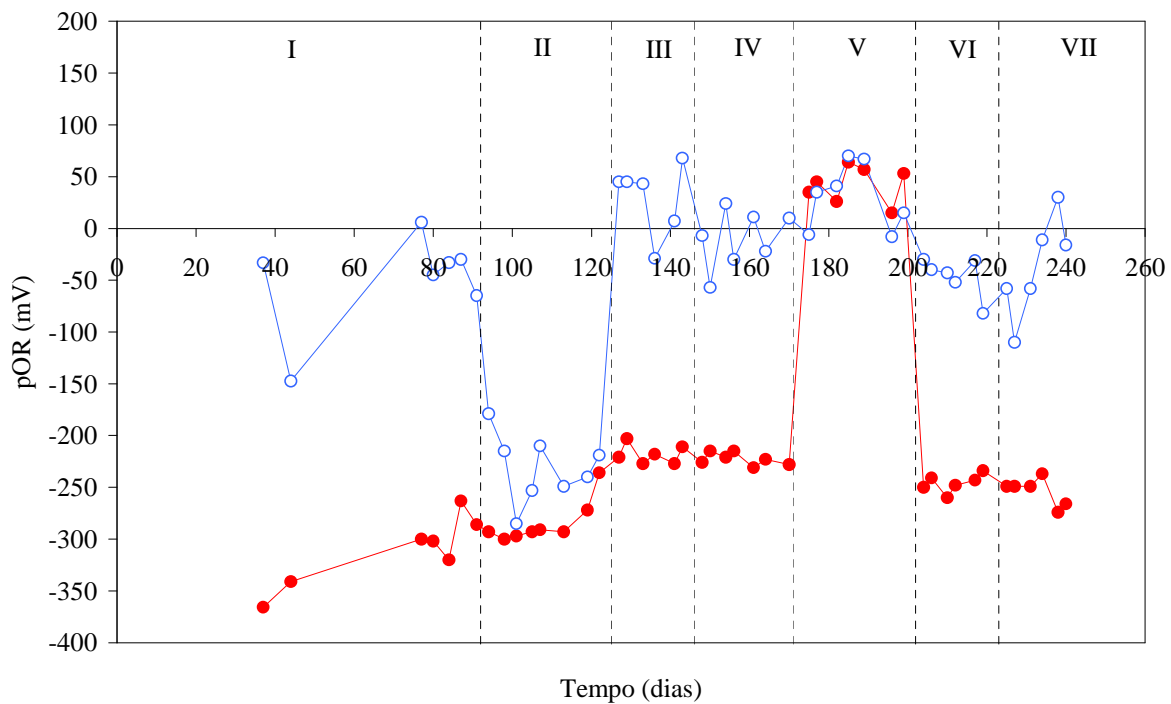


Figura 5.19 – Resultados de potencial de óxido-redução (pOR) obtidos durante a operação do reator R3 na segunda etapa, para cada condição de alimentação. Legenda: (●) afluente; (○) efluente.

De maneira geral, os resultados obtidos na segunda etapa da pesquisa indicam a viabilidade de aplicação do processo de desnitrificação autotrófica, usando sulfeto como doador de elétrons, para remoção de nitrogênio de efluentes de reatores anaeróbios tratando esgoto sanitário. Observou-se, através dos dados experimentais, que a comunidade autotrófica atuou de maneira satisfatória, mesmo competindo pelos substratos com microrganismos heterotróficos. Além disso, os microrganismos autotróficos mostraram-se resistentes a vários compostos presentes comumente em esgotos sanitários reais, e que poderiam ser interferentes no processo aplicado, como residual orgânico, nitrogênio amoniacal, sulfato, óleos e o detergente que normalmente não é removido na unidade anaeróbia inicial do tratamento. Soma-se a isto a rápida recuperação da eficiência de desnitrificação obtida após período de cerca de um mês em que não foi adicionado sulfeto como fonte de doador de elétrons, demonstrando a versatilidade do processo em situações adversas.

5.2.3 Análise morfológica da comunidade microbiana

Os exames microscópicos de amostras do lodo do reator R3 apresentaram características semelhantes às observadas na primeira etapa. Foram detectadas colônias de bacilos (Figura 5.20a), bacilos dispersos (Figura 5.20c) e aglomerados em grandes quantidades (Figura 5.20e). Foram também observados cocos, filamentos (Figura 5.20d) e morfologias persistentes do lodo original de inóculo.

Da mesma forma que na etapa anterior, foram observados focos luminosos, semelhantes a grânulos de enxofre elementar, durante a operação com excesso de doador de elétrons, correspondente à fase II, conforme pode ser visualizado na Figura 5.20b.

Foram detectados também alguns protozoários (Figura 5.20f), principalmente durante a operação nas fases III e V, caracterizadas pela escassez de sulfeto como doador de elétrons. A diminuição de sulfeto como agente redutor nestas condições, aliada à microaerofilia que provavelmente ocorria devido à recirculação no reator, pode ter propiciado o desenvolvimento destes organismos.

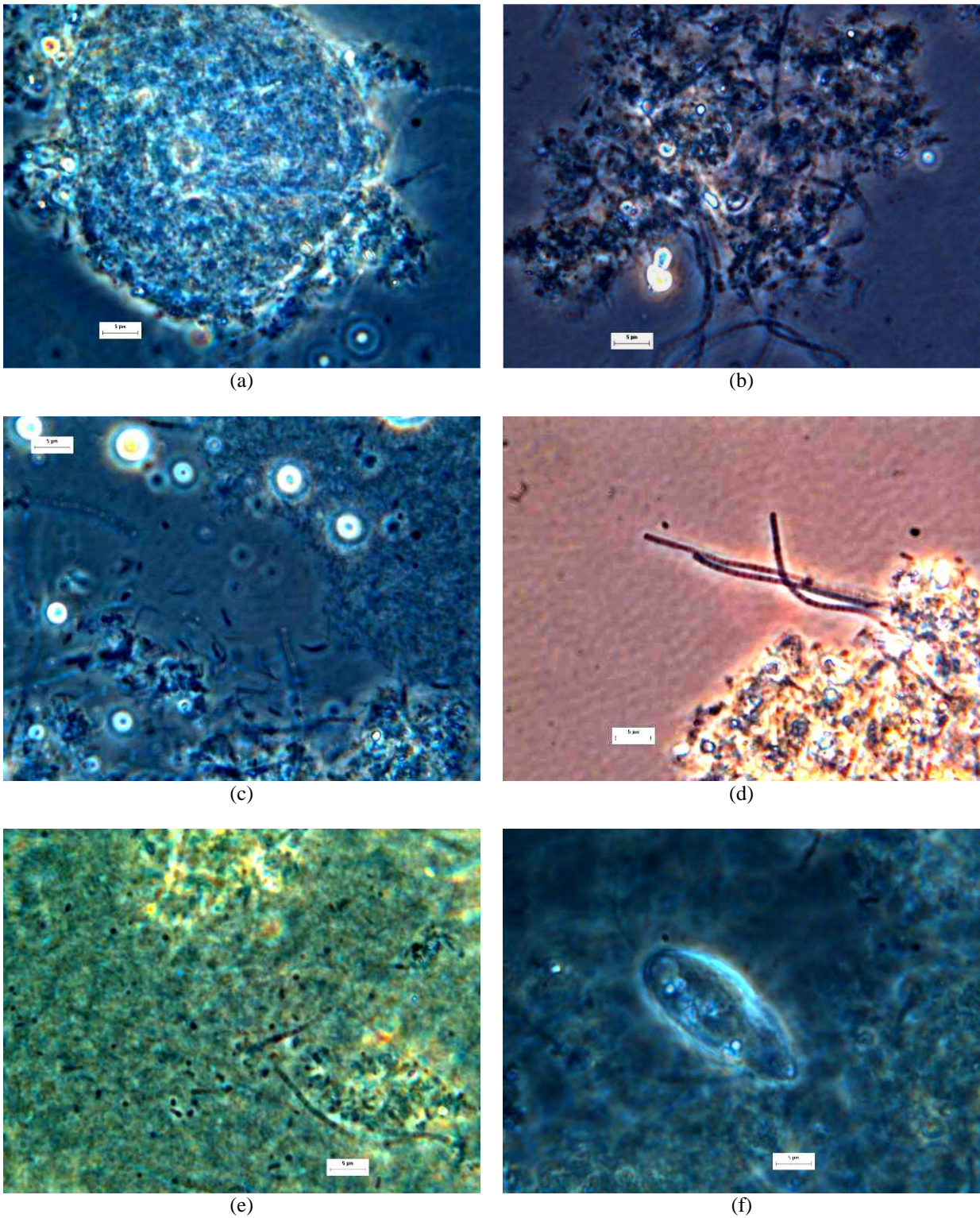


Figura 5.20 – Microscopia óptica de contraste de fase para amostras de biomassa de R3, na segunda etapa da pesquisa: (a) colônia de organismos semelhantes a bacilos; (b) formas luminosas semelhantes a enxofre elementar; (c) agrupamento de bacilos e bacilos dispersos; (d) morfologias filamentosas; (e) aglomerado de bacilos e cocos; (f) protozoário.

5.3 Terceira etapa

5.3.1 Caracterização do esgoto sanitário real

Os resultados dos perfis temporais realizados para caracterização do esgoto sanitário real mostraram que existe uma grande variação horária em termos das concentrações dos compostos analisados.

Para DQO, as maiores concentrações observadas ocorreram pela manhã, próximo ao meio-dia, e nas primeiras horas da tarde (Figura 5.21). Este comportamento foi verdadeiro tanto para DQO total, quanto para DQO filtrada.

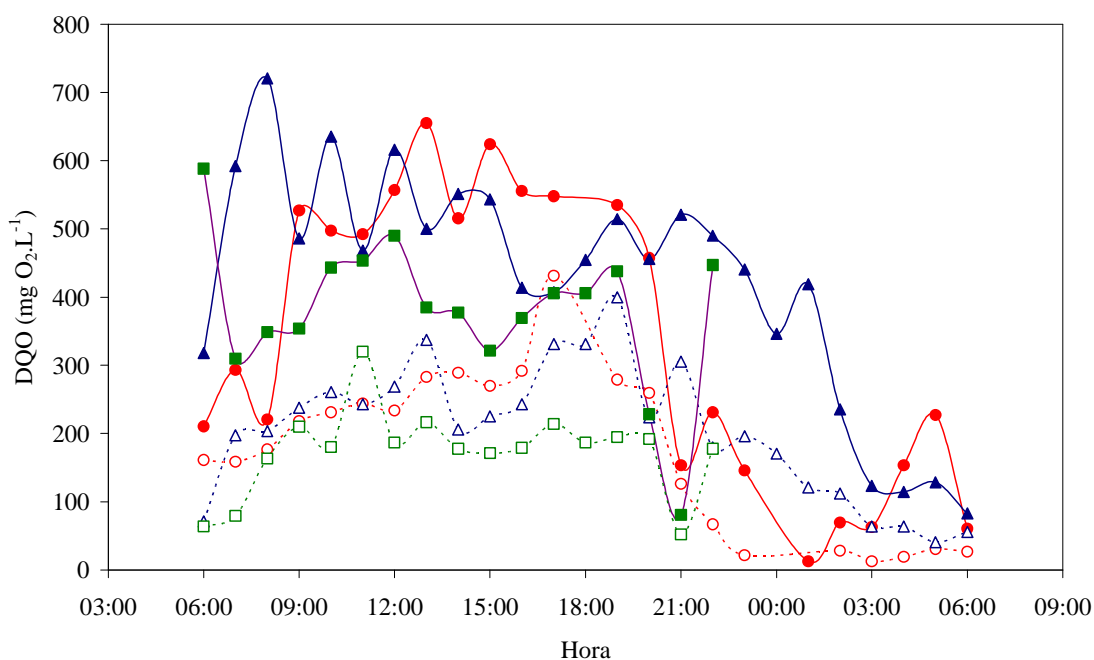


Figura 5.21 – Concentrações de DQO total e filtrada nos perfis temporais do esgoto sanitário real.
 Legenda: (●) DQO total – Perfil 1; (▲) DQO total – Perfil 2; (■) DQO total – Perfil 3; (○) DQO filtrada – Perfil 1, (Δ) DQO filtrada – Perfil 2; (□) DQO filtrada – Perfil 3.

Os três eventos de perfis produziram resultados semelhantes com relação às concentrações de nitrogênio amoniacal (Figura 5.22). Os perfis de sulfato revelaram picos de até $18 \text{ mg S-SO}_4^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ próximos ao meio-dia (Figura 5.23).

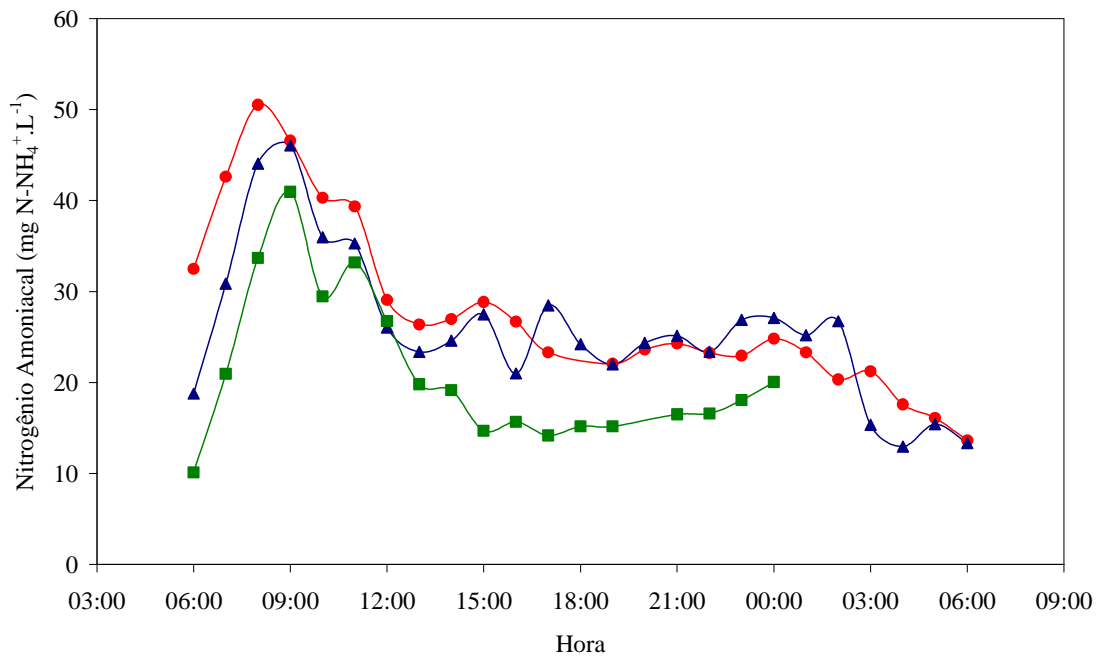


Figura 5.22 – Concentrações de nitrogênio amoniacal nos perfis temporais do esgoto sanitário real. Legenda: (●) Perfil 1; (▲) Perfil 2; (■) Perfil 3.

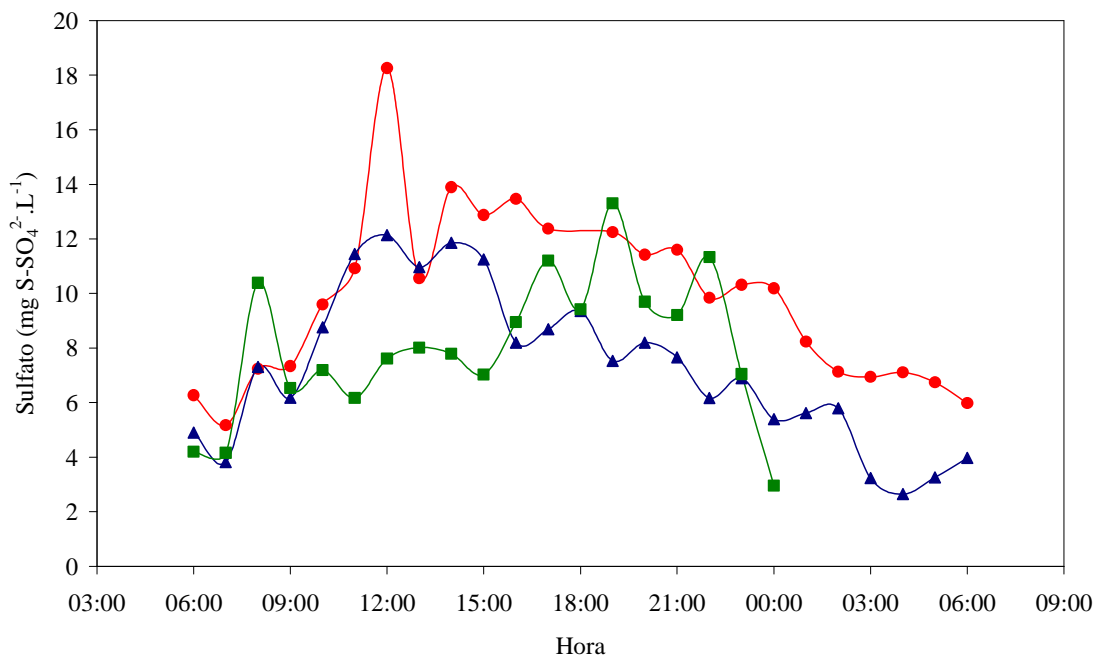


Figura 5.23 – Concentrações de sulfato nos perfis temporais do esgoto sanitário real. Legenda: (●) Perfil 1; (▲) Perfil 2; (■) Perfil 3.

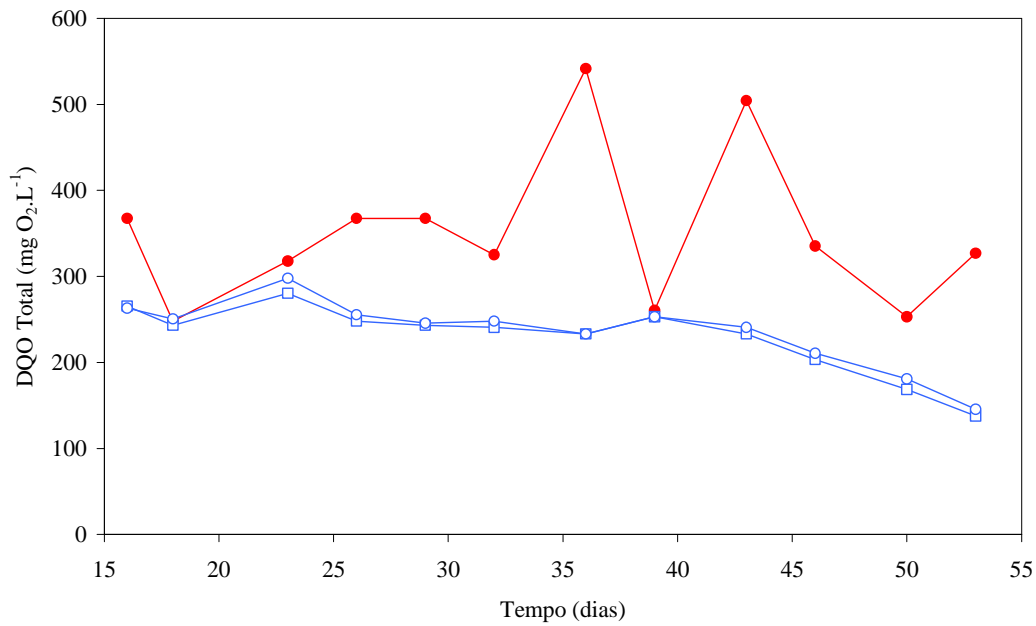
As concentrações máximas, médias e mínimas dos parâmetros analisados nos perfis temporais estão apresentadas na Tabela 5.6.

Tabela 5.6 – Valores mínimos, médios e máximos obtidos nos perfis temporais realizados para o esgoto sanitário real.

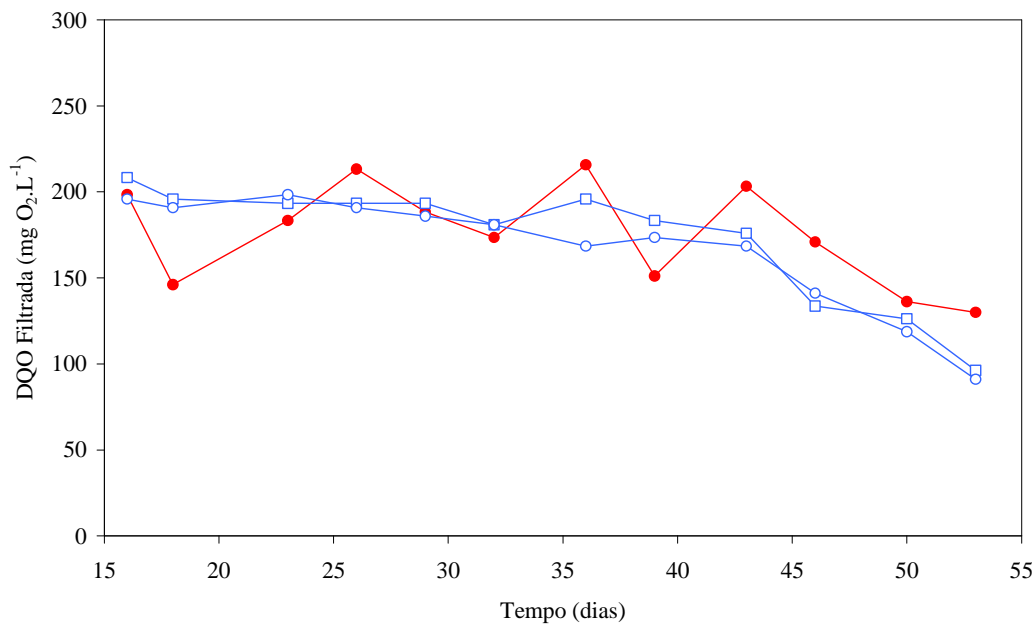
Parâmetros	Perfil 1			Perfil 2			Perfil 3		
	Mín.	Méd.	Máx.	Mín.	Méd.	Máx.	Mín.	Méd.	Máx.
DQO Total (mg O ₂ .L ⁻¹)	12,61	339,32	655,08	82,69	423,14	720,56	80,58	379,07	588,14
DQO Filtrada (mg O ₂ .L ⁻¹)	12,61	175,43	431,44	40,67	203,54	399,72	52,09	174,41	320,12
Sulfato (mg S-SO ₄ ²⁻ .L ⁻¹)	5,17	9,82	18,26	2,65	7,25	12,13	2,95	8,01	13,30
N-Amoniacal (mg N-NH ₄ ⁺ .L ⁻¹)	13,63	27,76	50,52	12,96	25,75	46,05	10,12	21,11	40,95

5.3.2 Auto-inoculação, adaptação e controle do sistema

Os reatores componentes do sistema DANDE passaram, após início da operação, por período de auto-inoculação e adaptação de aproximadamente 75 dias. Neste período, o processo de digestão anaeróbia no compartimento inferior de RA foi estabelecido com sucesso aos 60 dias de operação, produzindo efluente com características tipicamente anaeróbias. Não houve grandes variações de pH entre o afluente e efluente no período, com valores médios de 7,05 e 6,76, para afluente e efluente, respectivamente. De acordo com as Figuras 5.24a e 5.24b, os valores de concentrações de DQO total e filtrada no efluente foram progressivamente reduzindo-se ao longo do período de adaptação. As medições foram feitas em amostras coletadas ao final dos compartimentos inferior e superior de RA, sendo o efluente deste último o efluente final do sistema. Pode-se observar na Figura 5.24 que houve grandes variações nos valores medidos para o afluente ao sistema, conforme já comprovado pelos perfis temporais do esgoto sanitário real apresentados no item 5.3.1, enquanto os valores obtidos para os efluentes se mantiveram relativamente estabilizados. Este fato mostrou o amortecimento gerado pelo sistema em face à grande variabilidade de características do afluente. Além disso, as figuras mostram também que não existiu diferença significativa entre os valores obtidos para os efluentes dos compartimentos inferior e superior de RA e que, portanto, a digestão anaeróbia ocorria principalmente no compartimento inferior, sendo este um comportamento desejado segundo o projeto inicial do sistema.



(a)

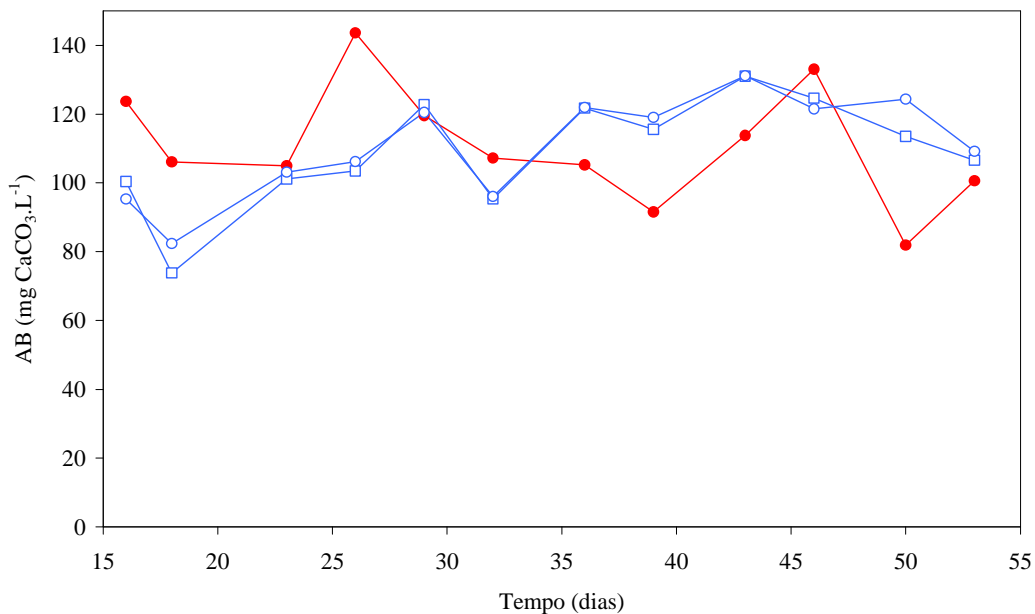


(b)

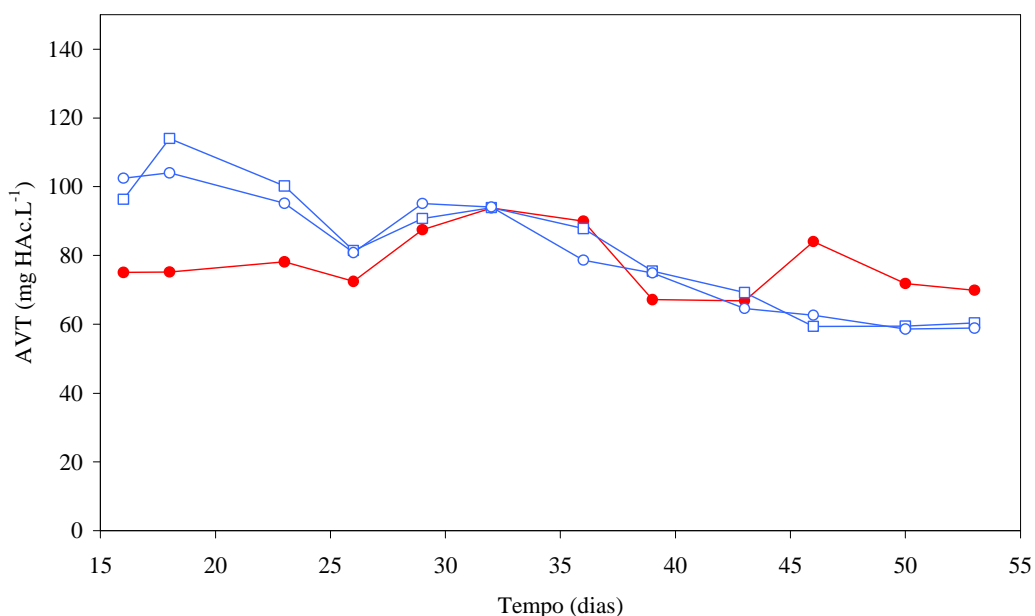
Figura 5.24 – Concentrações de DQO total (a) e DQO filtrada (b) medidas durante período de adaptação do reator RA na terceira etapa. Legenda: (●) afluente; (□) efluente do compartimento inferior; (○) efluente do compartimento superior (efluente final).

Com relação à alcalinidade a bicarbonato (AB) e aos ácidos voláteis totais (AVT), ao longo do período de adaptação de RA os valores de AB foram lentamente aumentando no efluente (Figura 5.25a), enquanto os valores de AVT diminuíram progressivamente (Figura 5.25b). Este comportamento reforçou a constatação da adaptação do compartimento

anaeróbio, pois são típicas da digestão anaeróbia estável a produção de AB e o consumo dos AVT.



(a)



(b)

Figura 5.25 – Concentrações de AB (a) e AVT (b) medidas durante período de adaptação do reator RA na terceira etapa. Legenda: (●) aflúente; (□) efluente do compartimento inferior; (○) efluente do compartimento superior (efluente final).

O desenvolvimento de biomassa anaeróbia nos compartimentos inferior e superior pôde ser constatado visualmente pela coloração do material suporte coletado ao final do

período de adaptação de RA (Figura 5.26). Para ambos os compartimentos, o material suporte se apresentava bastante colonizado, e com coloração bastante escura. Isto mostrou que o processo de auto-inoculação ocorreu com sucesso, e que o material suporte empregado favoreceu a retenção de biomassa no sistema.



Figura 5.26 – Material suporte de RA limpo (esquerda) e colonizado após período de adaptação de RA (direita), na terceira etapa da pesquisa.

O controle do sistema foi sujeito a certa instabilidade ao longo do período de operação, principalmente em termos de vazões, que eram medidas frequentemente e apresentavam variações significativas diariamente (Figura 5.27). Desta forma, as condições experimentais das fases I e II foram definidas pelas faixas de vazões obtidas em cada uma das fases. De acordo com a Figura 5.27, as vazões enviadas a RB, representando a proporção de efluente nitrificado, situaram-se em geral na faixa de 25 a 30% na fase I, enquanto na fase II a faixa foi de 40 a 60%. Assim, a fase I foi caracterizada por uma proporção média de efluente nitrificado na mistura de $28,0 \pm 2,7\%$, e a fase II foi caracterizada por uma proporção de $54,3 \pm 8,8\%$.

Com a estabilização do compartimento inferior de RA, foi iniciada a alimentação de RB, que desenvolveu atividade nitrificante com apenas 15 dias de operação. Com isto, foi iniciado o protocolo de análises completo para o sistema.

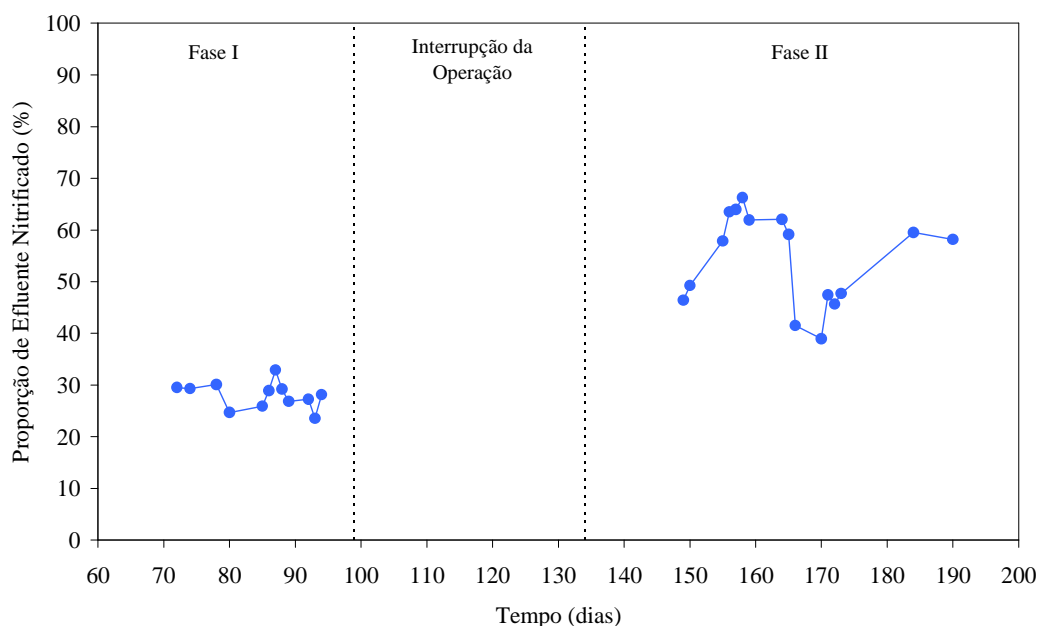
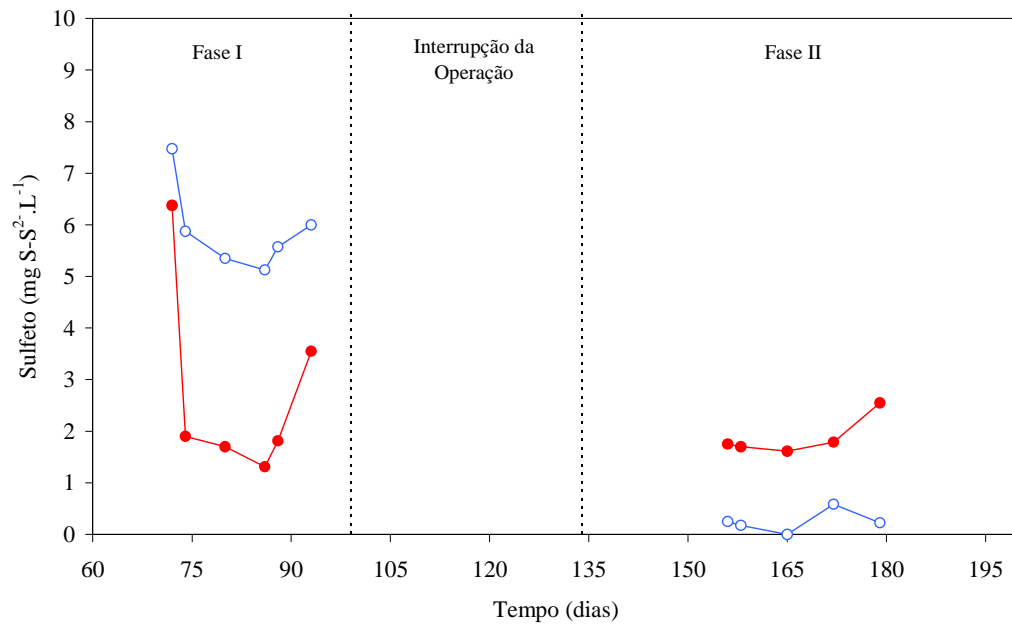


Figura 5.27 – Proporção de efluente enviado a RB para nitrificação ao longo da operação do sistema piloto.

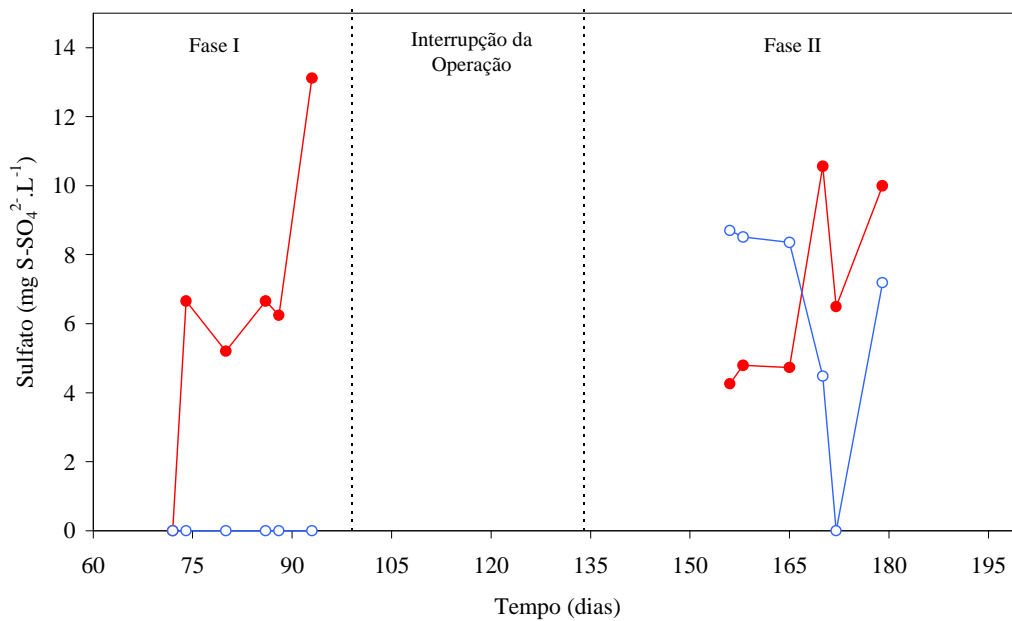
5.3.3 Monitoramento do compartimento inferior de RA

Os resultados de monitoramento obtidos para o compartimento inferior de RA mostraram um comportamento bastante divergente entre as fases I e II da operação do sistema. Enquanto na fase I este compartimento apresentou resultados típicos de processos anaeróbios, na fase II seu efluente gerou resultados que indicaram a ocorrência de outros processos no compartimento.

Sulfeto foi produzido ao longo de toda a fase I no compartimento inferior, chegando a valores próximos de $8 \text{ mg S-S}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ (Figura 5.28a), o que é natural a um ambiente anaeróbio em que existe a redução do sulfato presente no afluente. Já na fase II, ocorreu a inversão deste comportamento: sulfeto passou a ser consumido completamente, não sendo detectado no efluente do compartimento, conforme observado na Figura 5.28a. Da mesma forma, o sulfato que era inicialmente consumido na fase I para geração de sulfeto, passou eventualmente a ser produzido ou mantido nas mesmas concentrações na fase II (Figura 5.28b).



(a)



(b)

Figura 5.28 – Concentrações de sulfeto (a) e sulfato (b) obtidas durante monitoramento do compartimento inferior de RA, na terceira etapa. Legenda: (●) afluente; (○) efluente.

As concentrações de compostos de enxofre obtidas nesta etapa do experimento foram bastante baixas, devido às concentrações de sulfato no afluente. Considerando-se a relação molar estequiométrica $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ de 1,6, o valor máximo de $8 \text{ mg S-S}^{2-} \cdot \text{L}^{-1}$ obtido no efluente do compartimento inferior de RA seria suficiente para a remoção, através da desnitrificação autotrófica com sulfeto unicamente, de $5,6 \text{ mg N-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$, aproximadamente. Entretanto, esta análise considera somente a ação do sulfeto dissolvido no meio, sendo que na realidade existe

também a ação do sulfeto gasoso produzido continuamente no compartimento inferior. Como o biogás produzido neste compartimento percorria toda a altura do reator com grande velocidade, em comparação à velocidade ascensional do líquido, supõe-se que cada seção de líquido em RA estivesse sujeita à passagem de grande quantidade de biogás até sua chegada ao topo do reator, possivelmente aumentando a ação do sulfeto sobre a desnitrificação. Além disso, a concepção do sistema considerava a utilização de outras fontes de doadores de elétrons para a desnitrificação, como o residual orgânico e o metano, sendo a desnitrificação autotrófica apenas uma das possibilidades.

Houve também alteração de comportamento com relação ao potencial de óxido-redução (pOR) medido no efluente do compartimento inferior de RA. De acordo com a Figura 5.29, na fase I o pOR manteve-se em valores bastante negativos no efluente do compartimento, indicando ambiente altamente reduzido e, portanto, condições tipicamente anaeróbias. Já na fase II, foram detectados eventualmente valores neutros ou até bastante positivos de pOR no efluente do compartimento inferior, mostrando que esta condição operacional tornou o meio mais oxidado nesta região.

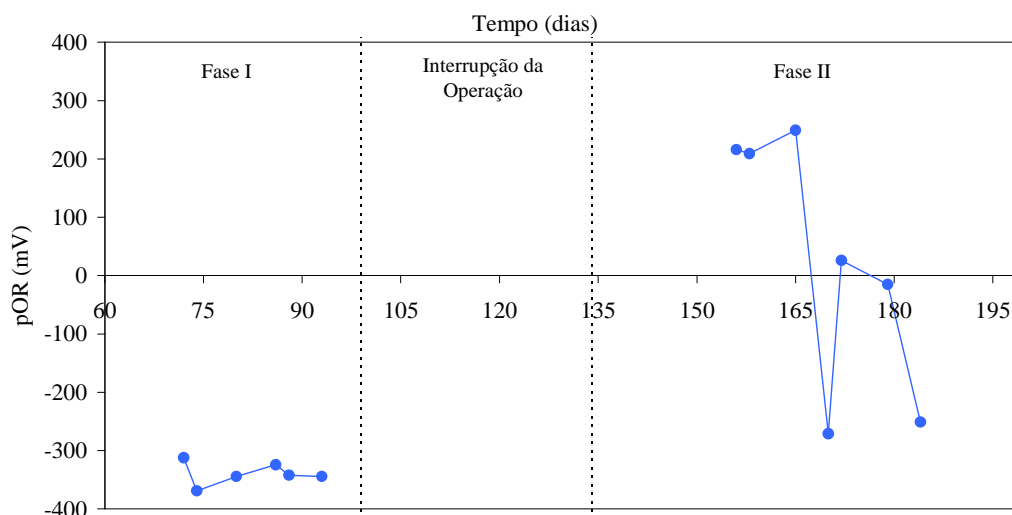


Figura 5.29 – Valores de potencial de óxido-redução (pOR) obtidos para o efluente coletado imediatamente acima do compartimento inferior de RA, na terceira etapa.

Pelos resultados obtidos para o efluente do compartimento inferior de RA em termos de sulfeto, sulfato e pOR, fica claro que, na fase I, o líquido localizado na região imediatamente acima do compartimento inferior se apresentava com características de meio

reduzido, isto é, com redução de sulfato a sulfeto e valores bastante negativos de pOR, enquanto na fase II predominaram características de meio oxidado, com oxidação de sulfeto a sulfato e valores neutros ou positivos de pOR. Esta inversão de comportamentos pode ter sua explicação nas alterações hidrodinâmicas causadas no compartimento intermediário de RA ao se passar da fase I à fase II da operação do sistema. Visto que o compartimento intermediário apresentava, em sua região inferior, a tubulação de sucção de efluente anaeróbico para o reator nitrificante RB e, em sua região superior, a tubulação de retorno do efluente nitrificado de RB ao reator RA (Figura 4.9), é possível que o aumento da vazão enviada a RB, na fase II, tenha gerado certa mistura no compartimento intermediário e fundido as zonas de influência de ambas as tubulações. Desta forma, a parte superior do compartimento inferior pode ter sido exposta ao efluente nitrificado, cuja mistura com a fração não-nitrificada era inicialmente prevista para ocorrer somente na região imediatamente abaixo do compartimento superior de RA, e adquirido características mais oxidadas, causando os efeitos observados. Esta mistura imprevista no compartimento intermediário pode ter redefinido, assim, os processos e funções de cada compartimento do sistema, conforme descrito posteriormente.

Foi observado consumo de nitrogênio amoniacal no compartimento inferior de RA em ambas as fases de operação (Figura 5.30). Este consumo foi mais pronunciado na fase II, com eficiências de remoção de nitrogênio amoniacal de até 50% e, na média, de aproximadamente 40% (Tabela 5.7). Não é, porém, comum ao processo de digestão anaeróbia o consumo de nitrogênio amoniacal; o que usualmente ocorre é a amonificação, ou seja, a conversão de nitrogênio orgânico, presente no afluente, a nitrogênio amoniacal. Mais uma vez, a hipótese de que a região acima do compartimento inferior de RA estava sendo exposta à mistura de efluentes nitrificado e não-nitrificado é válida, e esta mistura pode explicar o abatimento da concentração de nitrogênio amoniacal neste ponto de amostragem. Além disso, não foi detectado nitrato ou nitrito significativamente neste ponto e, inclusive, em nenhum ponto de amostragem de RA, conforme apresentado nos próximos itens. Este fato sugere a ocorrência de desnitrificação no compartimento intermediário de RA, mas não se sabe se isto ocorria no ponto de mistura dos efluentes nitrificado e não-nitrificado (logo abaixo do compartimento superior), na tubulação de transferência de efluentes entre RB e RA ou no contato com a biomassa da região do topo do compartimento inferior. O que se pode afirmar é que houve algum fenômeno no compartimento intermediário ou na tubulação de transferência de efluentes que resultou no abatimento da concentração de nitrogênio antes da introdução do efluente no compartimento superior. Entre as possibilidades estão a presença de biofilme na tubulação de transferência de efluente nitrificado, presença de biomassa suspensa no

compartimento intermediário, desnitrificação no topo do compartimento inferior, recirculação para o reator RB de efluente já desnitrificado e misturado no compartimento intermediário, ou existência de caminhos preferenciais entre as tubulações superior e inferior de conexão de RA com RB.

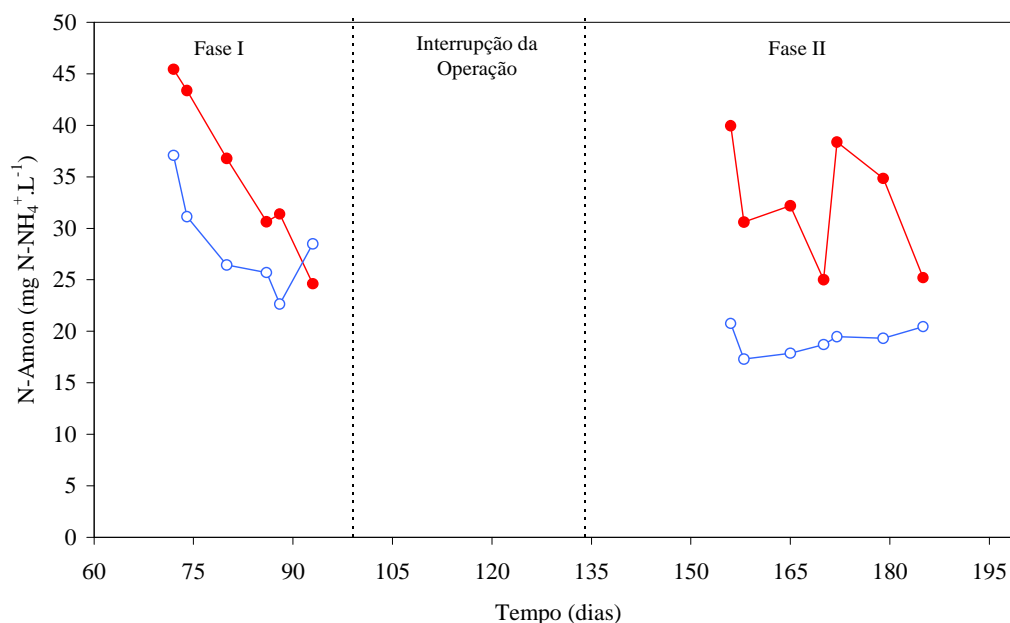


Figura 5.30 – Concentrações de nitrogênio amoniacal obtidas durante monitoramento do compartimento inferior de RA, na terceira etapa. Legenda: (●) afluente; (○) efluente.

Embora em menor escala, houve também consumo de nitrogênio amoniacal na fase I do experimento, fase esta em que não se detectou, através dos dados de sulfeto, sulfato e pOR, indícios de mistura de meio oxidado na parte superior do compartimento inferior de RA. Ainda assim, houve remoção de nitrogênio amoniacal, no compartimento inferior, de aproximadamente 17%, em média (Tabela 5.7). Não se sabe se, neste caso, havia realmente consumo deste composto no compartimento inferior para produção celular, por exemplo, ou se ocorria, de maneira mais sutil, o fenômeno de mistura observado na fase II.

Existe ainda outro aspecto importante da configuração do sistema piloto que deve ser levado em consideração para a interpretação dos resultados. As tomadas para amostragem localizavam-se nas paredes dos reatores e retiravam o efluente localizado próximo a estas paredes. Isto pode ter representado algum tipo de influência nos resultados, caso os fenômenos próximos ao centro do reator fossem diferentes do que ocorria próximo às bordas. A única exceção considerada na construção do sistema, com relação a este aspecto, foi o ponto de amostragem imediatamente abaixo do compartimento superior de RA, que ficava

entre a tubulação que trazia o efluente de RB para mistura em RA e o compartimento superior. Neste ponto, a tomada de amostras foi ligada a uma tubulação que se prolongava até o centro de RA, para obtenção de amostra mais representativa da mistura dos efluentes nitrificado e não-nitrificado que deveria ocorrer nesta região. Ainda assim, este ponto não esclareceu as dúvidas levantadas anteriormente, já que, mesmo com os cuidados tomados nesta região para obtenção de amostra representativa da mistura, nitrato ou nitrito nunca foram detectados neste ponto, e o nitrogênio amoniacal já se apresentava nas mesmas concentrações observadas na região onde era coletado o efluente do compartimento inferior.

A garantia da mistura nos pontos de coletas de amostras em reatores de maior escala constitui-se em um dos problemas inerentes à operação deste tipo de sistema. Porém, conforme apresentado nos próximos itens, a coerência de resultados em diferentes pontos de amostragem acabou por diminuir as suspeitas de que as amostras não fossem representativas e, portanto, atribuiu-se maior peso às outras hipóteses levantadas para os fenômenos observados.

A produção de sulfato observada eventualmente na fase II, aliada aos indícios de ocorrência de desnitrificação, com diminuição da concentração final de nitrogênio amoniacal na mistura, sugere que o sulfeto pode ter sido realmente utilizado para promoção da desnitrificação autotrófica no sistema. Não é possível afirmar com certeza, porém, a extensão do efeito deste tipo de desnitrificação, visto a diversidade de processos passíveis de ocorrência no sistema.

O compartimento inferior de RA consumiu em torno de 50 % de DQO total em ambas as fases, sem diferenças significativas entre elas (Tabela 5.7). Já com relação à DQO filtrada, houve um aumento significativo da eficiência de remoção na fase II, acompanhada por grande redução dos AVT no efluente. Isto pode estar relacionado à mistura do efluente do compartimento inferior de RA com o efluente proveniente de RB, conforme já descrito, o que pode ter contribuído para a redução destes parâmetros, visto que efluentes de reatores aeróbios desta natureza apresentam baixíssimas concentrações de matéria orgânica. Outra hipótese é a variação das características do afluente à época da fase II, já que foram detectadas concentrações mais baixas de DQO e AVT no esgoto sanitário utilizado na alimentação neste período. Não houve mudança significativa de comportamento na geração de AB entre as duas fases. Os resultados médios para afluente e efluente, assim como eficiências de remoção, dos parâmetros discutidos estão apresentados na Tabela 5.7.

Tabela 5.7 - Resultados médios obtidos para o compartimento inferior do reator RA, durante a operação do sistema DANDE na terceira etapa da pesquisa.

Parâmetro	Fase I				Fase II			
	Afluente		Efluente		Afluente		Efluente	
pH	6,86	± 0,24	6,71	± 0,21	6,98	± 0,17	6,87	± 0,09
pOR (mV)	-		-339,17	± 19,56	-		23,29	± 218,28
Sulfeto (mg S-S ²⁻ .L ⁻¹)	2,78	± 1,93	5,90	± 0,84	1,88	± 0,38	0,92	± 1,67
Sulfato (mg S-SO ₄ ²⁻ .L ⁻¹)	6,31	± 4,18	0,00	± 0,00	6,81	± 2,80	6,21	± 3,42
N-Amon (N-NH ₄ ⁺ .L ⁻¹)	35,37	± 8,02	28,58	± 5,04	32,30	± 5,89	19,13	± 1,27
DQO Total (mg O ₂ .L ⁻¹)	316,68	± 116,29	157,52	± 58,99	276,10	± 74,65	127,58	± 30,20
DQO Filtrada (mg O ₂ .L ⁻¹)	184,96	± 84,37	108,32	± 40,01	158,98	± 56,74	67,95	± 34,16
AB (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	72,73	± 49,52	116,13	± 8,12	121,46	± 17,19	127,72	± 13,80
AVT (mg HAc.L ⁻¹)	122,04	± 49,60	78,06	± 18,47	47,19	± 7,23	18,26	± 4,22
Efic. de remoção N-Amon (%)	17,17 ± 16,98				39,10 ± 12,01			
Efic. de Remoção DQO Total (%)	49,21 ± 10,72				53,19 ± 7,21			
Efic. Remoção DQO Filtrada (%)	39,58 ± 11,58				59,44 ± 14,22			

5.3.4 Monitoramento de RB

O reator nitrificante RB foi diretamente afetado pelas mudanças de condição operacional aplicadas nas fases I e II, visto que eram definidas de acordo com a fração da vazão total do sistema que era enviada, após passagem pelo compartimento inferior de RA, a RB para nitrificação. Portanto, houve variação do TDH em cada fase, resultando em diferentes comportamentos do reator. Na fase I, o TDH se manteve em torno de 24 h, enquanto na fase II, o TDH reduziu-se para 8 a 12 h, levando-se em consideração as variações de vazão durante o período.

Foi observada redução do pH no reator RB durante toda a operação. Visto que a nitrificação consome alcalinidade, e que esta não era abundante no esgoto sanitário utilizado na alimentação, este resultado era esperado em maior ou menor escala. Na fase I, o efluente de RB apresentou, em média, pH de 6,5, não muito abaixo dos valores de pH obtidos para o efluente do compartimento inferior de RA. Na fase II, entretanto, os valores de pH do efluente de RB se mantiveram, em média, em 5,3, valor considerado bastante baixo para manutenção do processo de nitrificação (Tabela 5.8).

Ainda que o pH tenha se mantido em níveis mais estáveis na fase I, a eficiência de nitrificação de RB não foi satisfatória nesta fase. Foi observada nitrificação parcial a nitrito, e não houve consumo completo do nitrogênio amoniacal disponível (Figuras 5.31 e 5.32). Foi

medida produção de nitrato, concomitantemente à de nitrito (Figura 5.33); entretanto, somando-se as concentrações nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato em cada ponto de análises, nota-se que o total excede os valores de nitrogênio amoniacal presentes no compartimento inferior de RA, de onde a alimentação de RB era proveniente. É possível que, neste caso, a concentração de nitrato no efluente tenha sido superestimada, visto que a metodologia empregada para este tipo de análise apresenta interferência em amostras contendo nitrito, principalmente quando este se encontra em faixa similar de concentração. O baixo desempenho de RB na fase I pode ter sido relacionado aos altos valores de TDH aplicados nesta fase, resultando em baixas cargas volumétricas de nitrogênio aplicadas, o que pode ter desfavorecido o desenvolvimento dos microrganismos nitrificantes.

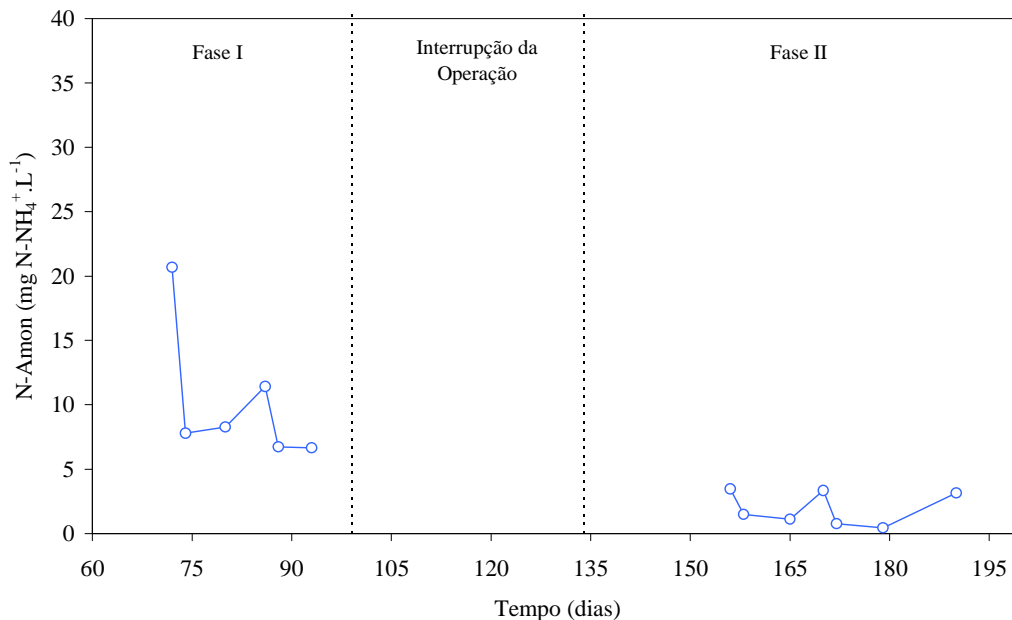


Figura 5.31 – Concentrações de nitrogênio amoniacal obtidas durante monitoramento do reator RB, na terceira etapa.

Na fase II, a nitrificação passou a ser completa novamente, com consumo quase total de nitrogênio amoniacal e sem presença significativa de nitrito (Figuras 5.31 e 5.32). Isto ocorreu mesmo com quedas bruscas de pH, que não impediram o bom desempenho do reator RB nesta fase. As concentrações de nitrato obtidas (Figura 5.33), porém, contabilizaram em valores totais de nitrogênio no efluente de RB inferiores aos obtidos na fase I. Situaram-se, aliás, em faixa bastante similar quando comparadas às concentrações de nitrogênio amoniacal detectadas no efluente do compartimento inferior de RA. Associando-se estes fatos às observações feitas com relação aos dados de pOR, sulfeto e sulfato no efluente do

compartimento inferior de RA na fase II, pode-se supor que a mistura entre efluente nitrificado e não-nitrificado no compartimento intermediário de RA pode ter se intensificado nesta fase a ponto de ocorrer a recirculação de efluente misturado já desnitrificado, ou seja, com uma concentração final menor de nitrogênio amoniacal. Este fenômeno, já descrito anteriormente em função de outras evidências no sistema, pode ter, portanto, ocasionado a alimentação de RB com efluente com menores concentrações de nitrogênio amoniacal, e as quedas de pH podem ter sido ocasionadas pela menor presença de alcalinidade na mistura.

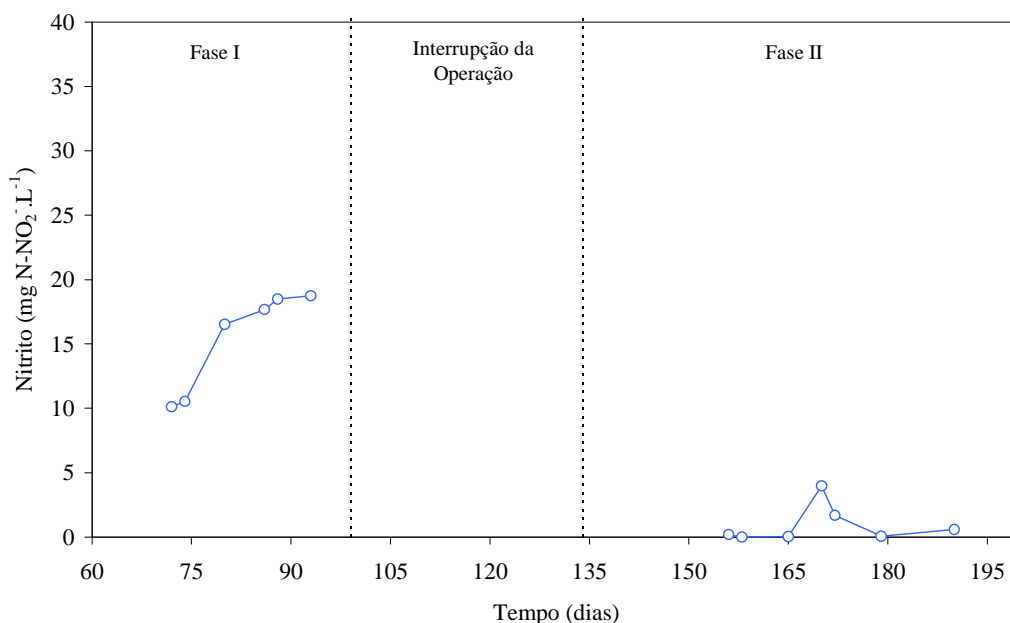


Figura 5.32 – Concentrações de nitrito obtidas durante monitoramento do reator RB, na terceira etapa.

Os resultados obtidos para RB mostram que a nitrificação, inicialmente acoplada ao sistema apenas como processo auxiliar, acabou por influenciar o comportamento global do sistema, visto que as condições operacionais tiveram impacto sobre seu desempenho e que os parâmetros da alimentação não proporcionaram condições ótimas para a nitrificação. É importante salientar, portanto, que o comportamento deste tipo de sistema acaba sendo consequência de inúmeros fatores relativos às características da alimentação, hidrodinâmica e peculiaridades dos diferentes processos ocorrendo em cada compartimento.

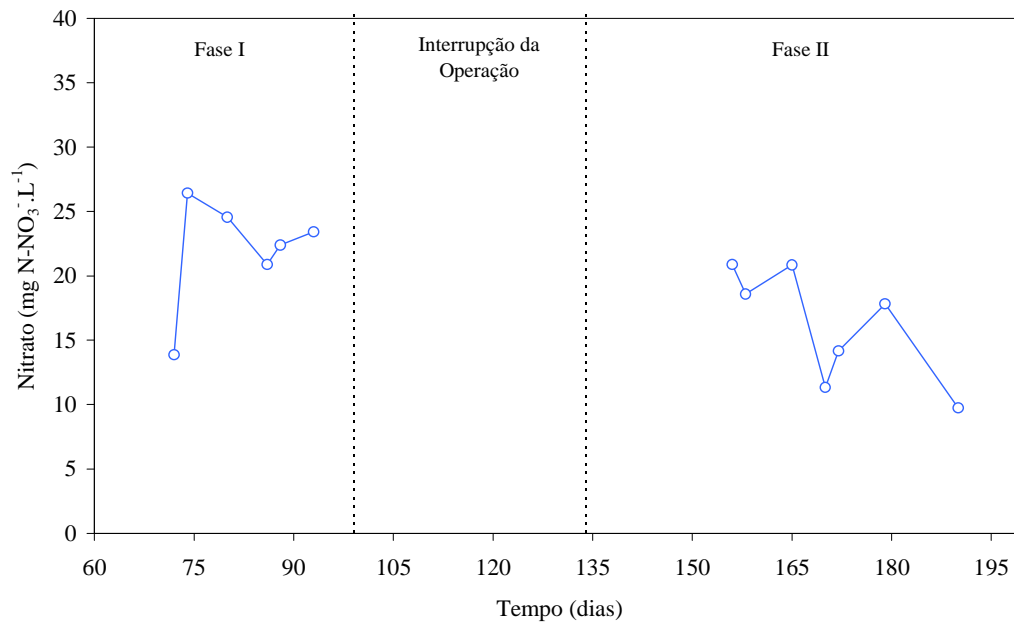


Figura 5.33 – Concentrações de nitrato obtidas durante monitoramento do reator RB, na terceira etapa.

Os parâmetros médios do efluente do reator RB, monitorados durante a operação do sistema piloto, estão apresentados na Tabela 5.8.

Tabela 5.8 - Resultados médios obtidos para o efluente do reator RB, durante a operação do sistema DANDE na terceira etapa da pesquisa.

Parâmetro	Fase I	Fase II
pH	6,53 ± 0,46	5,31 ± 0,60
pOR (mV)	226,67 ± 46,41	397,83 ± 65,03
N-Amon (N-NH ₄ ⁺ .L ⁻¹)	10,27 ± 5,40	1,97 ± 1,30
Nitrito (mg N-NO ₂ ⁻ .L ⁻¹)	15,35 ± 3,96	0,94 ± 1,47
Nitrato (mg N-NO ₃ ⁻ .L ⁻¹)	21,93 ± 4,38	16,20 ± 4,50

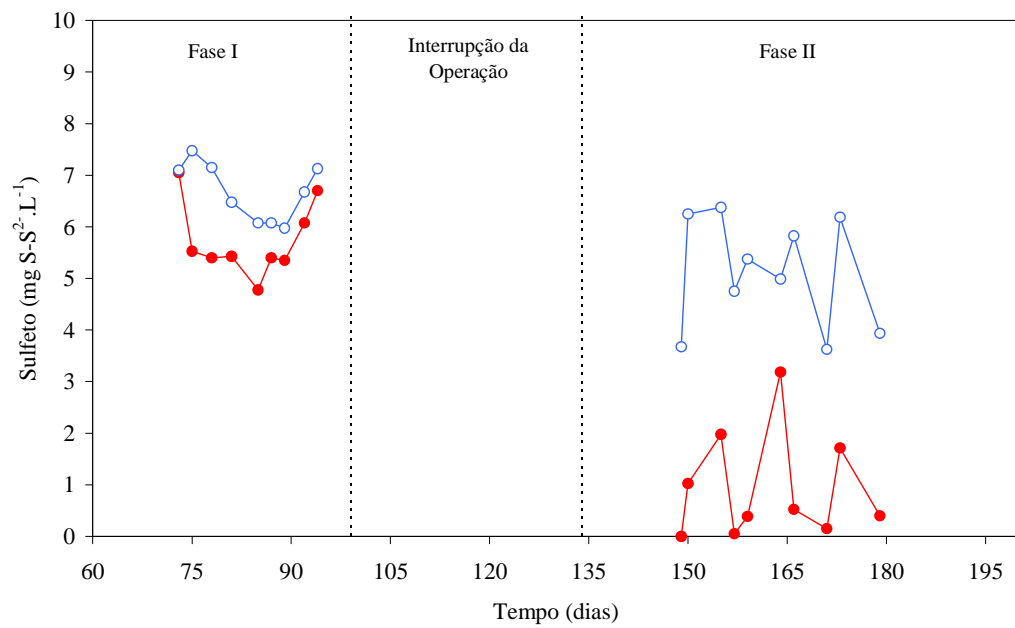
5.3.5 Monitoramento do compartimento superior de RA

O compartimento superior de RA, inicialmente projetado para promover a desnitrificação no sistema, não cumpriu sua função estipulada, devido aos fenômenos observados e descritos nos itens anteriores, relativos à desnitrificação antes da introdução do efluente neste compartimento. Grande parte dos parâmetros monitorados não sofreu alteração significativa entre afluente e efluente no compartimento superior de RA, com exceção do pOR, sulfato e sulfeto.

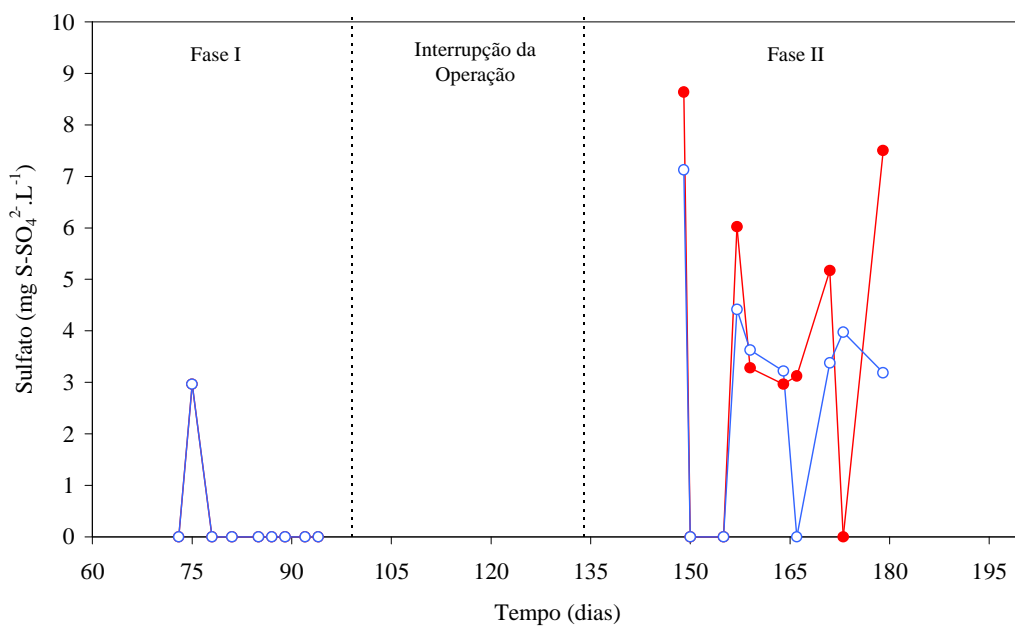
Sulfeto foi produzido no compartimento superior, principalmente na fase II (Figura 5.34a). As tendências observadas para o afluente a este compartimento foram as mesmas medidas para o efluente do compartimento inferior, mostrando que os parâmetros nas regiões inferior e superior do compartimento intermediário eram relativamente homogêneos. Na fase II, os valores baixos de sulfeto no afluente ao compartimento superior foram substituídos por valores mais altos no efluente. Estes valores mais altos podem estar relacionados, além da redução do sulfato no compartimento, ao acúmulo do biogás contendo sulfeto no topo do reator, na região do selo hídrico, o que pode ter contribuído para a dissolução do sulfeto no líquido. Com relação ao sulfato, nenhuma transformação foi observada na fase I, caracterizada somente por valores praticamente nulos, e houve um pequeno consumo do sulfato presente no afluente ao compartimento na fase II (Figura 5.34b).

Na fase I, o pOR permaneceu tão negativo quanto era observado no efluente do compartimento inferior de RA, e com valores constantes no afluente e efluente do compartimento superior (Figura 5.35). Já na fase II, os valores de pOR positivos detectados no efluente do compartimento inferior se mantiveram moderadamente negativos, próximos a zero ou ligeiramente positivos no afluente do compartimento superior, sendo reduzidos a valores bastante negativos no efluente deste último compartimento.

Os resultados relativos a sulfeto, sulfato e pOR mostram que, principalmente na fase II, o compartimento superior de RA se comportou como uma região anaeróbia pós-desnitrificação, visto que foi observada pequena redução de sulfato, aumento da concentração de sulfeto e estabelecimento de valores de pOR negativos no efluente deste compartimento. Isto reforçou, mais uma vez, que ocorreu no sistema uma realocação das funções previstas para cada compartimento, em função dos fenômenos imprevistos observados.



(a)



(b)

Figura 5.34 – Concentrações de sulfeto (a) e sulfato (b) obtidas durante monitoramento do compartimento superior de RA, na terceira etapa. Legenda: (●) afluente; (○) efluente.

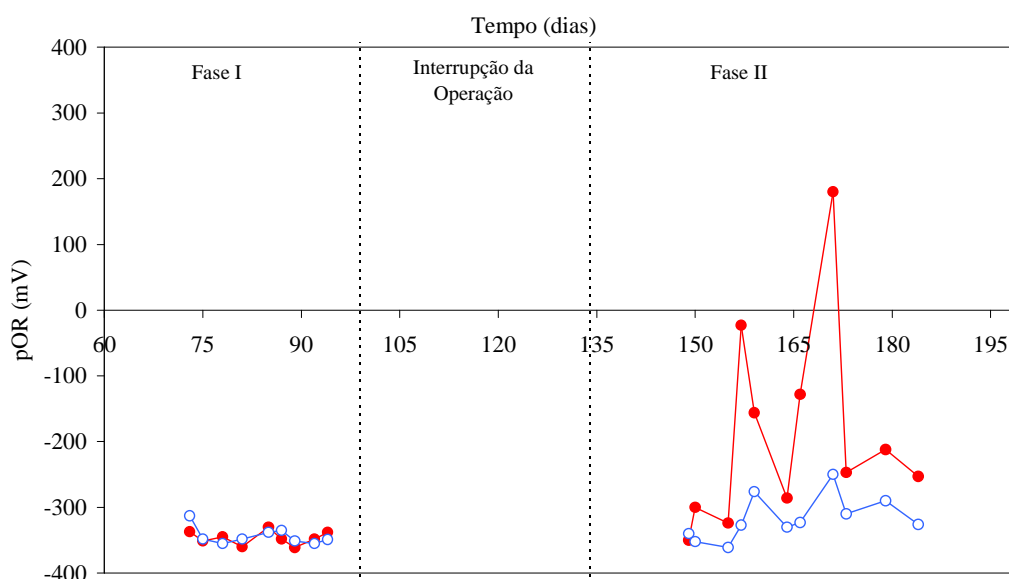


Figura 5.35 – Valores de potencial de oxi-redução (pOR) obtidos durante monitoramento do compartimento superior de RA, na terceira etapa. Legenda: (●) afluente; (○) efluente.

Nenhuma transformação significativa foi detectada para os compostos de nitrogênio no compartimento superior. Nitrogênio amoniacal manteve-se praticamente inalterado no afluente e efluente do compartimento (Figura 5.36), e com os mesmos valores já provenientes do compartimento inferior de RA, mostrando que os fenômenos relacionados a este composto já haviam ocorrido antes da chegada ao compartimento superior. Nitrato foi detectado apenas em baixíssimas concentrações no afluente do compartimento superior, na fase I (Figura 5.37). Isto acabou por dificultar o entendimento dos processos ocorrendo no sistema, visto que a não-deteção do nitrato em RA sugeriu seu consumo de maneira muito rápida ou em algum ponto não acessível à medição. É importante salientar, entretanto, que, conforme já descrito no item anterior, nitrato era comprovadamente produzido em RB. Com relação ao nitrito, este composto não foi detectado em RA.

Os outros parâmetros de monitoramento do compartimento superior de RA não sofreram alterações significativas entre afluente e efluente. Em alguns casos, houve inclusive ligeira produção, e não consumo, gerando eficiências de remoção negativas. Os parâmetros médios medidos para este compartimento ao longo da operação do sistema estão apresentados na Tabela 5.9.

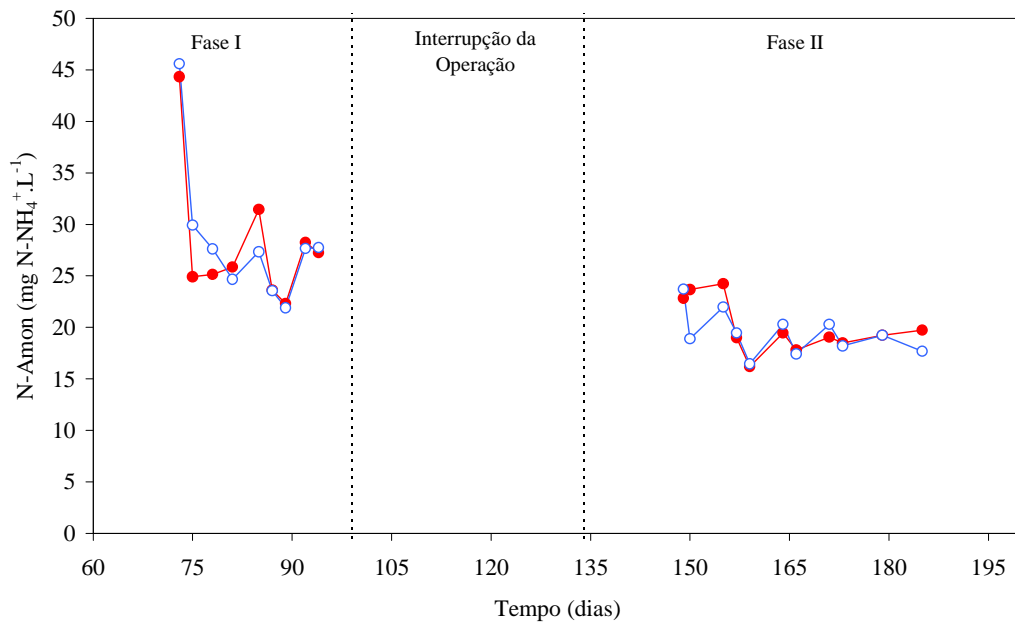


Figura 5.36 – Concentrações de nitrogênio amoniacal obtidas durante monitoramento do compartimento superior de RA, na terceira etapa. Legenda: (●) afluente; (○) efluente.

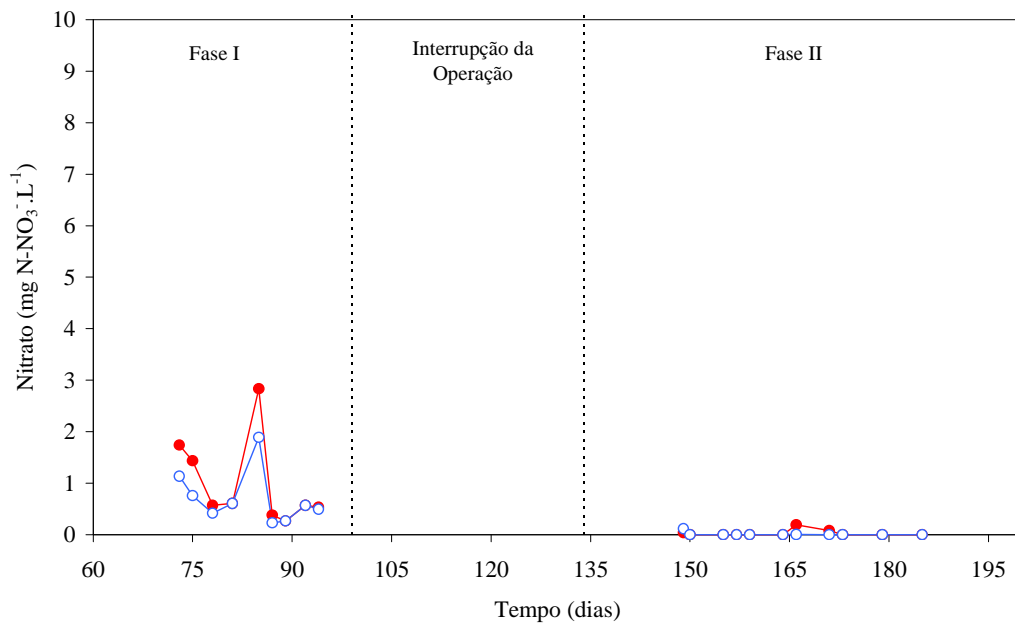


Figura 5.37 – Concentrações de nitrato obtidas durante monitoramento do compartimento superior de RA, na terceira etapa. Legenda: (●) afluente; (○) efluente.

Tabela 5.9 - Resultados médios obtidos para o compartimento superior do reator RA, durante a operação do sistema DANDE na terceira etapa da pesquisa.

Parâmetro	Fase I		Fase II	
	Afluente	Efluente	Afluente	Efluente
pH	6,80 ± 0,20	6,78 ± 0,13	6,87 ± 0,10	6,95 ± 0,13
pOR (mV)	-346,44 ± 10,33	-343,56 ± 13,34	-190,82 ± 155,68	-316,82 ± 33,20
Sulfeto (mg S-S ²⁻ .L ⁻¹)	5,74 ± 0,73	6,68 ± 0,56	0,94 ± 1,04	5,10 ± 1,08
Sulfato (mg S-SO ₄ ²⁻ .L ⁻¹)	0,33 ± 0,99	0,33 ± 0,99	3,67 ± 3,14	2,89 ± 2,30
N-Amon (N-NH ₄ ⁺ .L ⁻¹)	28,13 ± 6,64	28,45 ± 6,90	19,97 ± 2,53	19,42 ± 2,10
Nitrito (mg N-NO ₂ ⁻ .L ⁻¹)	0,11 ± 0,24	0,00 ± 0,00	0,07 ± 0,08	0,04 ± 0,05
Nitrato (mg N-NO ₃ ⁻ .L ⁻¹)	0,99 ± 0,85	0,71 ± 0,52	0,03 ± 0,06	0,01 ± 0,03
DQO Total (mg O ₂ .L ⁻¹)	157,96 ± 52,66	149,92 ± 54,41	124,68 ± 11,64	127,93 ± 12,77
DQO Filtrada (mg O ₂ .L ⁻¹)	111,77 ± 44,08	107,53 ± 45,08	64,35 ± 18,20	71,15 ± 21,29
AB (mg CaCO ₃ .L ⁻¹)	117,25 ± 13,95	125,72 ± 14,02	120,51 ± 11,21	141,28 ± 10,36
AVT (mg HAc.L ⁻¹)	67,91 ± 22,46	64,50 ± 24,10	21,02 ± 8,25	17,94 ± 2,67
Efic. de remoção N-Amon (%)	-1,41 ± 9,32*		2,23 ± 7,98	
Efic. de remoção DQO Total (%)	6,06 ± 7,94		-2,76 ± 6,95*	
Efic. Remoção DQO Filtrada (%)	4,17 ± 8,70		-10,39 ± 11,14*	

(*) O parâmetro não foi removido, e sim produzido.

5.3.6 Perfis espaciais e temporais

Os perfis espaciais realizados para ambos os reatores na fase II contribuíram para a elucidação de alguns aspectos do sistema.

Os perfis espaciais de oxigênio dissolvido (OD) do reator RA reforçaram a influência do efluente nitrificado nas condições ambientais do compartimento intermediário. Conforme pode ser observado na Figura 5.38, os valores de OD aumentaram nas regiões próximas ao compartimento intermediário de RA. Isto sugere que as características provenientes do efluente de RB não se restringiam à mistura na parte superior do compartimento intermediário, e sim se disseminavam por todo o compartimento, substanciando a hipótese da mistura de efluente nitrificado e efluente não-nitrificado em todo o compartimento intermediário e fusão das áreas de influência das tubulações inferior e superior deste compartimento. Estes resultados mostram também que havia interferência do OD aplicado em RB quando da introdução de seu efluente em RA, e que sua presença também deve ter contribuído para ampliar a gama de processos ocorrendo em RA. Baixas concentrações de OD foram também detectadas nos compartimentos inferior e superior de RA; porém, visto que apresentavam características anaeróbias, supõe-se que os valores obtidos foram consequência

de aeração introduzida no líquido durante amostragem e leitura, que era feita externamente ao reator.

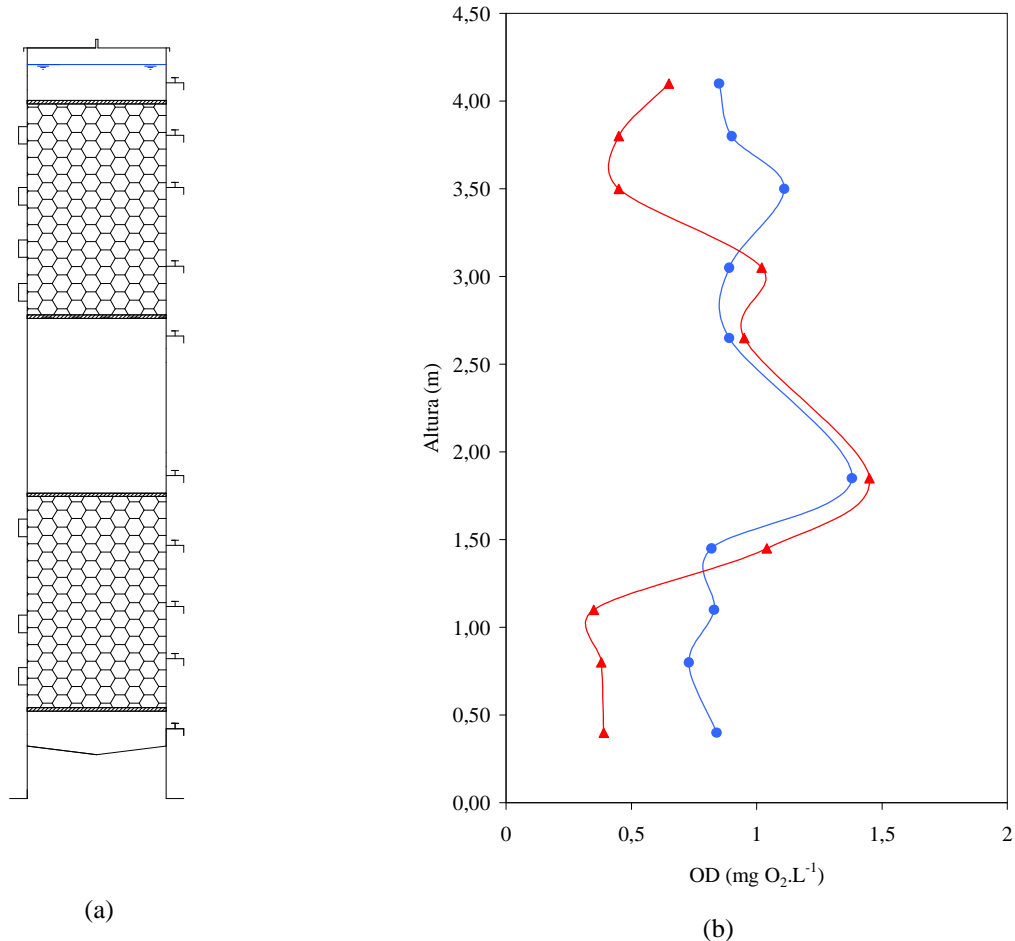


Figura 5.38 – Perfis espaciais de oxigênio dissolvido (OD) realizados para o reator RA na fase II da terceira etapa da pesquisa: (a) corpo do reator para visualização da localização dos resultados; (b) valores obtidos. Legenda: (●) Perfil 1 – dia 158; (▲) Perfil 2 – dia 166.

Com relação ao pOR, os perfis espaciais de RA acompanharam os resultados observados nos perfis de OD. Houve aumento dos valores de pOR na região do compartimento intermediário, embora tenham permanecido negativos (Figura 5.39), ao contrário do que foi observado eventualmente no monitoramento do reator, quando foram obtidos valores positivos. Ainda assim, os perfis mostram a presença de efluente com características mais oxidadas na região.

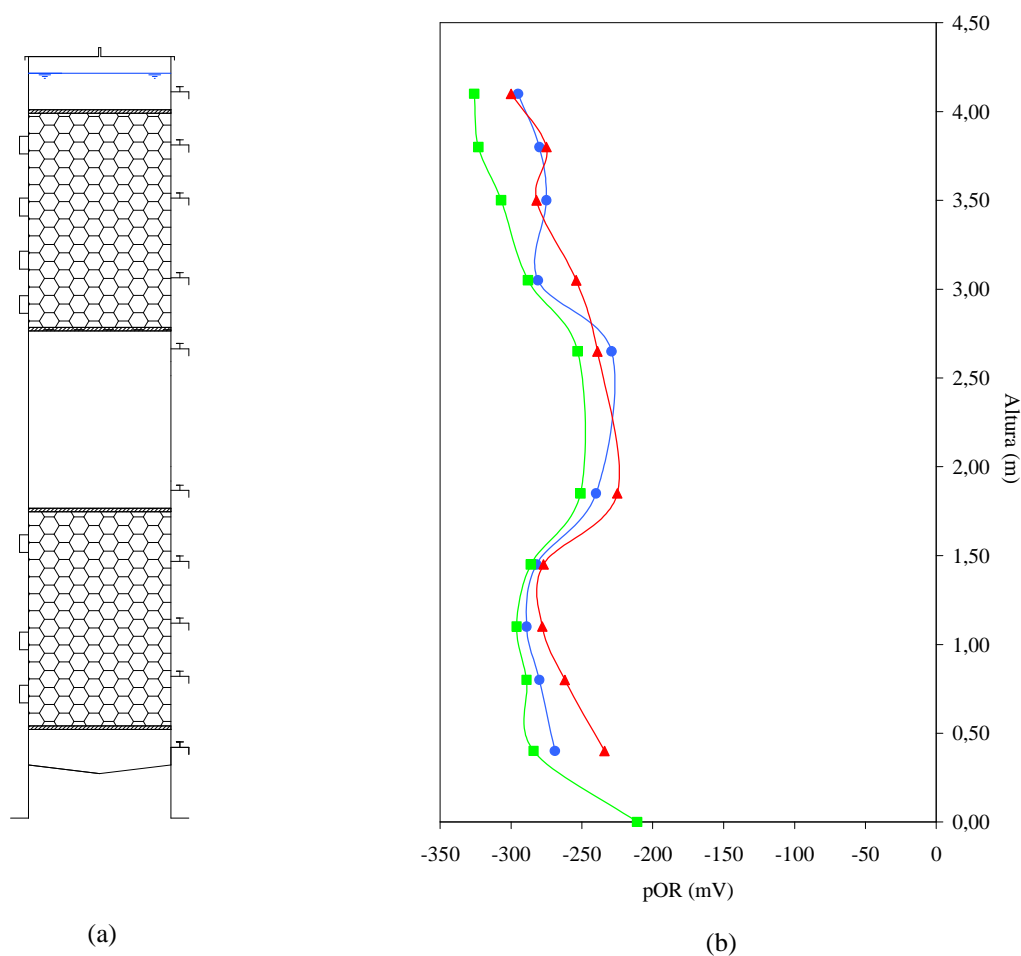


Figura 5.39 – Perfis espaciais de potencial de óxido-redução (pOR) realizados para o reator RA na fase II da terceira etapa da pesquisa: (a) corpo do reator para visualização da localização dos resultados; (b) valores obtidos. Legenda: (●) Perfil 1 – dia 158; (▲) Perfil 2 – dia 166; (■) Perfil 3 – dia 184.

Já para os compostos de nitrogênio, observou-se que a redução das concentrações de nitrogênio amoniacal, já descrita anteriormente, realmente ocorria principalmente no compartimento inferior de RA, e atingia um patamar relativamente constante a partir do compartimento intermediário, não sofrendo alterações no compartimento superior (Figura 5.40). Isto está de acordo com as observações feitas anteriormente, e com as hipóteses levantadas. Nitrito e nitrato não foram detectados nos perfis espaciais realizados para RA.

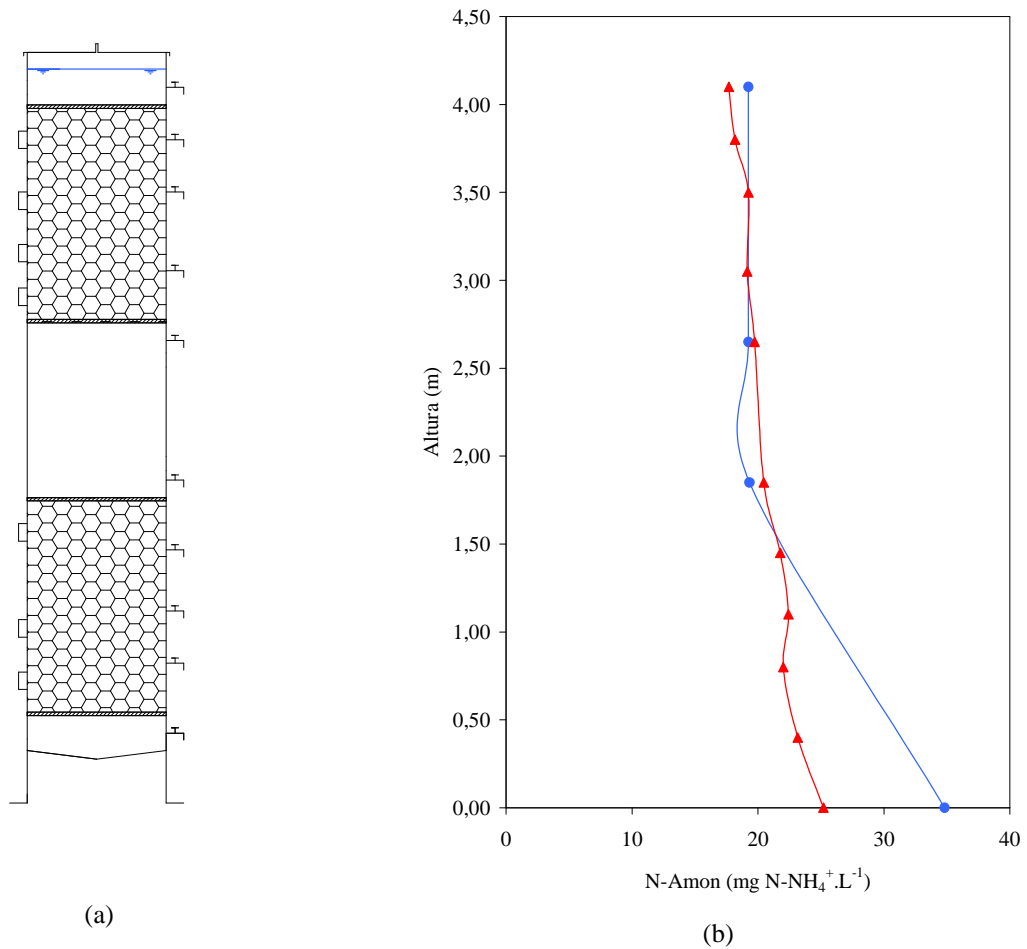


Figura 5.40 – Perfis espaciais de nitrogênio amoniacal realizados para o reator RA na fase II da terceira etapa da pesquisa: (a) corpo do reator para visualização da localização dos resultados; (b) valores obtidos. Legenda: (●) Perfil 1 – dia 179; (▲) Perfil 2 – dia 185.

Para o reator RB, os perfis espaciais de OD, também realizados ao final da fase II, mostraram que as concentrações de OD no reator nitrificante se mantiveram na faixa de 1,0 a 2,5 $\text{mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$, e eram maiores nas regiões próximas à base do reator, onde se localizava o difusor de ar (Figura 5.41).

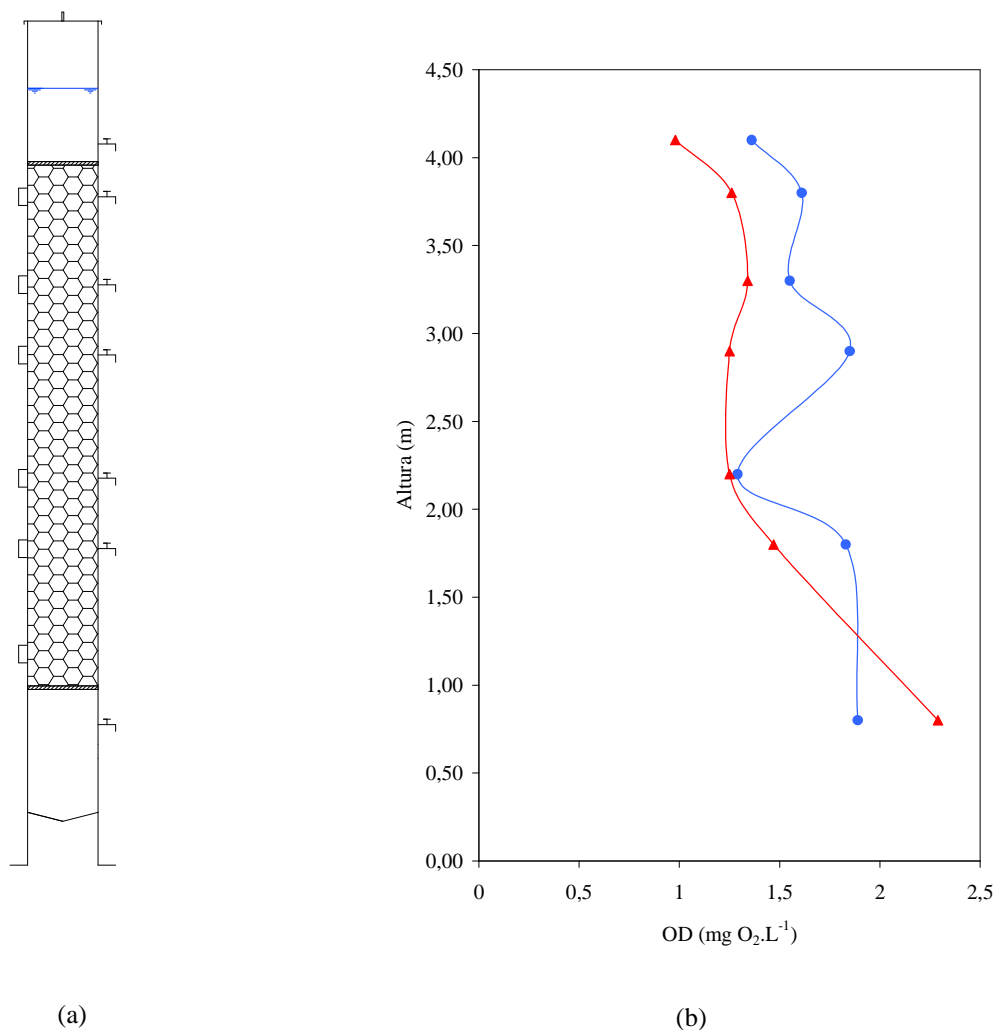


Figura 5.41 – Perfis espaciais de oxigênio dissolvido (OD) realizados para o reator RB na fase II da terceira etapa da pesquisa: (a) corpo do reator para visualização da localização dos resultados; (b) valores obtidos. Legenda: (●) Perfil 1 – dia 158; (▲) Perfil 2 – dia 166.

O perfil espacial realizado para estudo das transformações dos compostos de nitrogênio em RB mostrou que o nitrogênio amoniacal foi progressivamente consumido, enquanto nitrato foi produzido ao longo do corpo do reator, sem a presença significativa de nitrito (Figura 5.42). Os valores finais de nitrato, entretanto, foram mais baixos do que os obtidos normalmente em RB, atingindo somente cerca de $10 \text{ mg N-NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$. Visto que o perfil foi realizado ao final de novembro, época que se apresentava bastante chuvosa, e que o esgoto sanitário afluyente usualmente se diluía em eventos de chuva, é possível que o perfil tenha sido realizado em um momento em que havia presença de efluente diluído no sistema, o que explicaria as menores concentrações observadas.

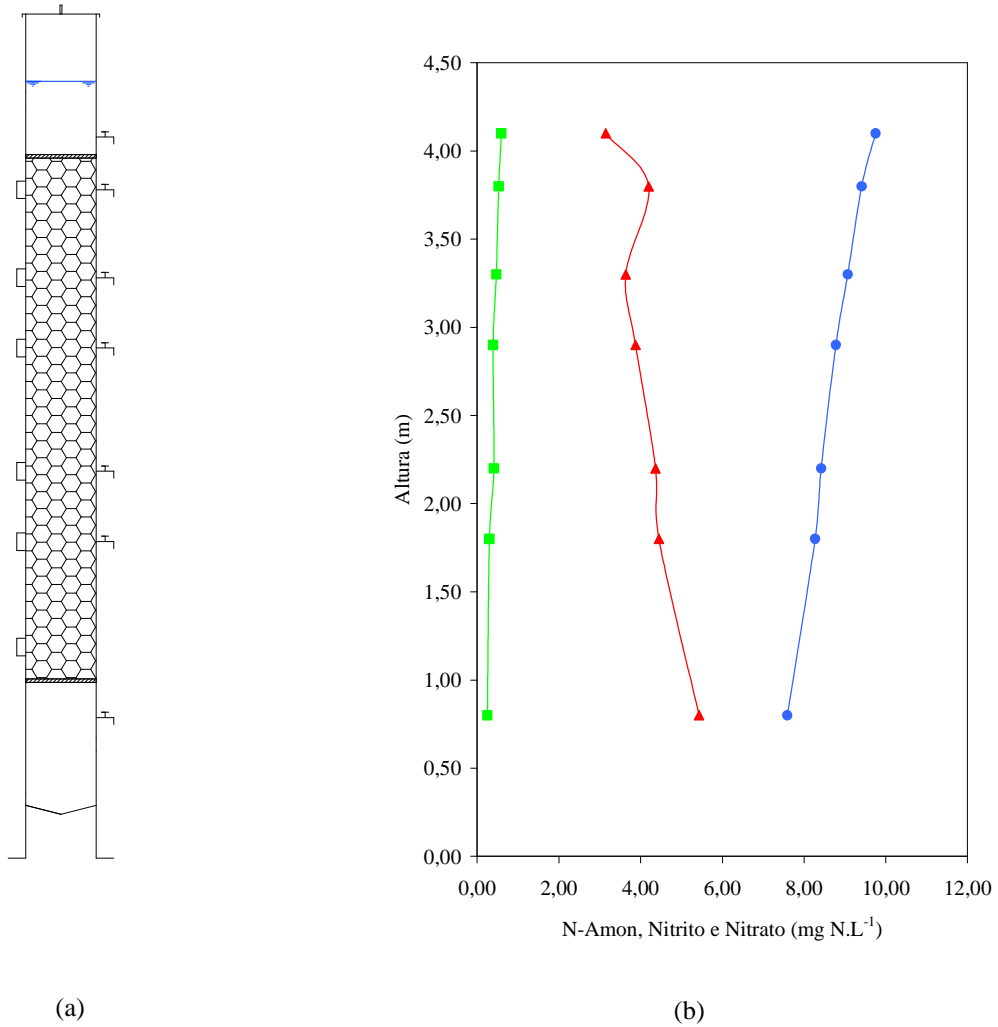


Figura 5.42 – Perfis espaciais de nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato realizados para o reator RB na fase II da terceira etapa da pesquisa: (a) corpo do reator para visualização da localização dos resultados; (b) valores obtidos – dia 190. Legenda: (●) nitrato; (▲) nitrogênio amoniacal; (■) nitrito.

Foi também realizado um perfil temporal de alguns parâmetros do efluente final do sistema, ao longo de um dia, para verificação da estabilidade das características do efluente, mesmo com as variações observadas no afluente. Os resultados mostraram que não houve variações significativas nas concentrações de nitrogênio amoniacal ao longo do tempo, e em nenhum momento foi detectado nitrito ou nitrato (Figura 5.43). Os valores de pOR mantiveram-se na faixa de -280 a -300 durante todo o tempo. Assim, pôde-se comprovar que as características do efluente verificadas pontualmente nas análises de monitoramento eram estáveis temporalmente.

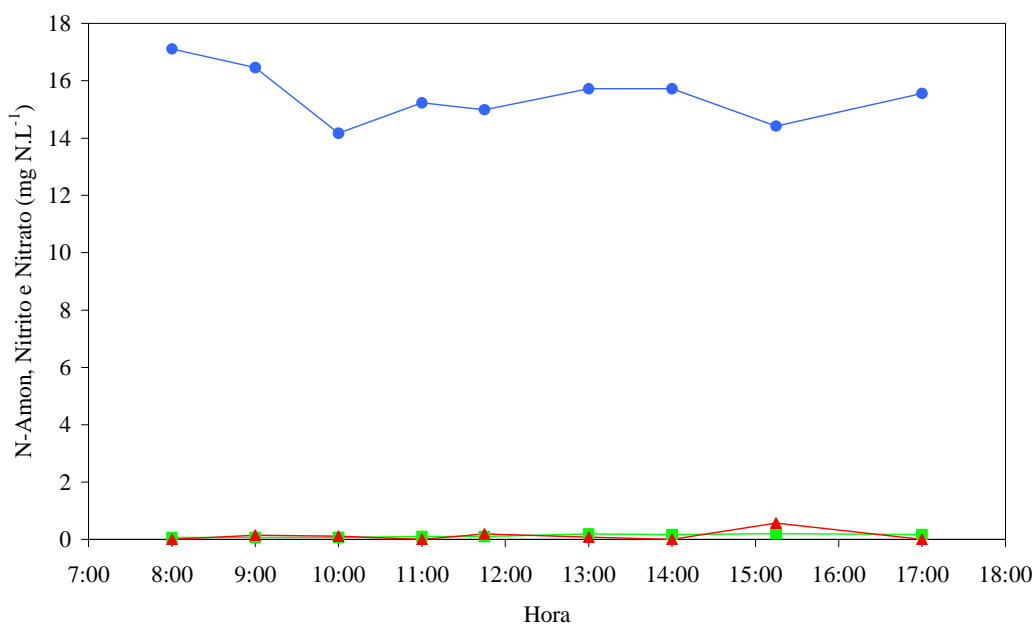


Figura 5.43 – Perfil temporal realizado para o efluente final do sistema, na terceira etapa da pesquisa. Legenda: (●) nitrogênio amoniacal; (▲) nitrato; (■) nitrito.

5.3.7 Estudo da composição do biogás

A composição do biogás coletado no topo do reator RA foi medida eventualmente ao longo da operação do sistema. Os resultados, mostrados na Figura 5.44, apontaram produção constante de metano (CH_4), chegando a 75% do total no início da operação, e reduzindo-se progressivamente com os dias de operação. Em contrapartida, houve aumento progressivo da porcentagem de nitrogênio gasoso (N_2) no biogás. Este aumento pode estar relacionado ao desenvolvimento da atividade desnitrificante ou à presença de ar originário do reator aeróbio RB ou introduzido através do bombeamento do líquido.

A participação do dióxido de carbono (CO_2) na composição do biogás manteve-se pequena durante todo o período de operação, não excedendo os 10% (Figura 5.44). Visto que na digestão anaeróbia esse composto apresenta maior papel na composição do biogás, juntamente com metano, os processos ocorrendo no sistema provavelmente se utilizaram do CO_2 produzido. É possível que este consumo esteja relacionado às baixas concentrações de alcalinidade fornecidas pelo esgoto sanitário, o que mostra que a configuração do sistema foi benéfica em termos do aproveitamento do CO_2 para compensar este déficit. É provável

também que a aeração em RB tenha contribuído para a maior presença de N_2 no biogás, reduzindo a proporção de CO_2 nas amostras.

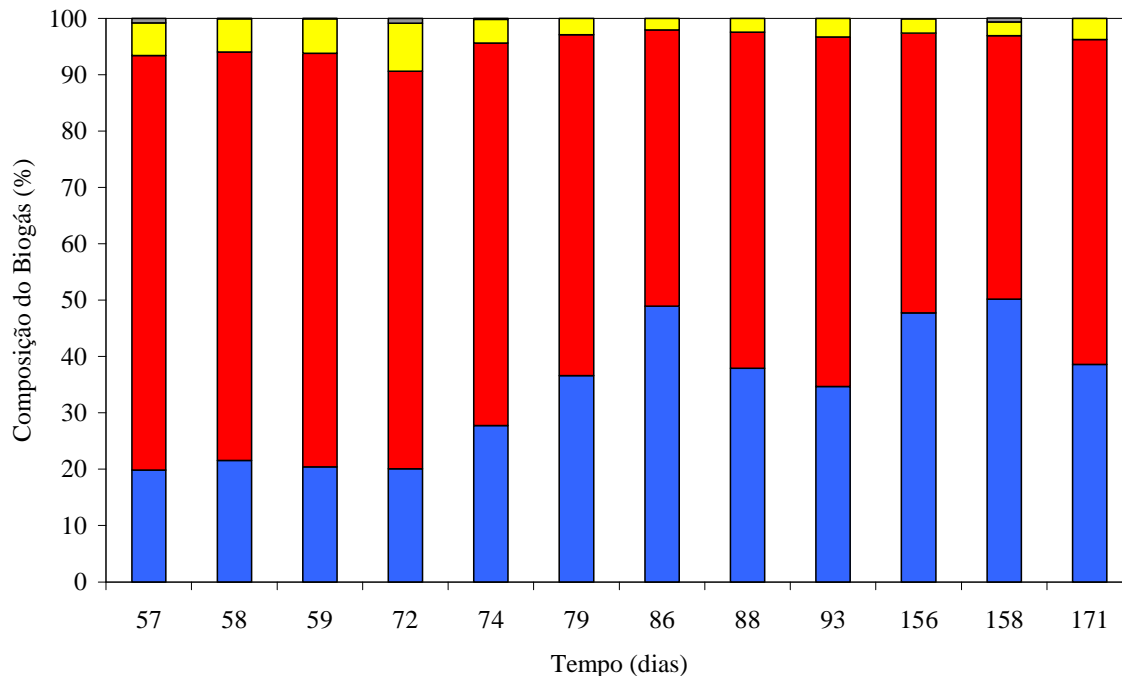


Figura 5.44 – Monitoramento da composição do biogás coletado no topo do reator RA, na terceira etapa da pesquisa. Legenda: (■) N_2 ; (■) CH_4 ; (■) CO_2 ; (■) H_2S .

Sulfeto gasoso (H_2S) foi detectado apenas em concentrações marginais, até 0,5%, o que é comum em biogás produzido por sistema anaeróbio tratando esgoto sanitário. Eventualmente, foram obtidos valores nulos para este composto, de acordo com a Figura 5.44.

Embora houvesse potencial para o uso de CH_4 e H_2S na remoção de nitrogênio do sistema, não se pode afirmar a extensão de sua utilização e a influência das condições operacionais sobre estes parâmetros. As variações de CH_4 na composição do biogás foram acompanhadas pelo aumento de N_2 , o que dificulta a avaliação de sua utilização, já que pode ter sido reduzido nesta composição devido apenas ao aumento da quantidade de ar proveniente do reator aeróbio, por exemplo. Já com relação ao H_2S , os baixos valores detectados, próximos do limite de detecção, impedem uma análise segura dos dados.

5.3.8 Considerações sobre a natureza do sistema piloto, dificuldades inerentes à sua operação e resultados obtidos

Observa-se pelos itens anteriores, relativos à terceira etapa da pesquisa, que muitas características e fenômenos associados ao sistema DANDE não puderam ser completamente esclarecidos. Isto se deve principalmente à natureza complexa e às dificuldades de operação inerentes a este tipo de sistema.

Primeiramente, deve-se considerar que a variabilidade dos parâmetros no afluente exerce uma grande influência sobre a interpretação dos resultados durante a operação. Se, por exemplo, é detectado um aumento das concentrações de DQO no efluente do compartimento anaeróbio, não se pode afirmar ao certo se houve uma queda no desempenho do processo, ou se houve, em algum momento anterior à medição, a entrada de afluente com altas concentrações de matéria orgânica. Embora este tipo de problema possa ser amenizado ao se considerar que ocorre amortecimento dos picos de concentração do afluente, há maior complexidade quando são detectadas concentrações muito menores do que o usual. Como um segundo exemplo, pode-se citar o ocorrido no perfil espacial de RB, em que foram observadas baixas concentrações de nitrato, em comparação com os valores que normalmente eram obtidos durante a operação. Neste caso, não se sabe se este fenômeno ocorreu devido à hidrodinâmica da recirculação da mistura de efluente nitrificado e não-nitrificado em RA, ou se foi simplesmente devido às chuvas que ocasionalmente ocorriam na época e poderiam estar contribuindo com a diluição das concentrações de compostos nitrogenados no afluente. Assim, épocas chuvosas somam-se à variabilidade horária natural das características do esgoto sanitário, dificultando ainda mais o entendimento dos processos no sistema.

O aumento de escala em experimentos representa também um aumento de sua complexidade operacional. A manutenção de vazões constantes de alimentação de RA e de envio de efluente de RA a RB representou dificuldades, afetando negativamente as condições operacionais aplicadas ao sistema, que consistiam no controle preciso destes parâmetros. Além disso, a amostragem em reatores piloto é usualmente mais deficiente do que em escala de bancada, já que amostras de reatores com maior área de base têm maior probabilidade de serem menos representativas. E, por fim, problemas operacionais, como defeitos em bombas, por exemplo, acabam gerando interrupções mais duradouras na escala piloto do que na escala de bancada, visto a especificidade das peças e o período maior de conserto. Todos estes

aspectos geram um número ainda maior de variáveis que podem contribuir nos resultados finais da pesquisa.

Em termos de processos, é bastante evidente que o sistema DANDE abrigou durante sua operação uma grande variedade de processos, como consequência da existência de regiões anaeróbias, aeróbias e anóxicas. Como fator intensificador desta pluralidade de processos, os resultados sugeriram que as características hidrodinâmicas do sistema rearranjaram estas regiões dentro dos reatores, de forma não prevista inicialmente no projeto. Além disso, observou-se também a interferência do oxigênio, proveniente do reator aeróbio, nas outras regiões, aumentando ainda mais a complexidade do conjunto. Como resultado final, pode-se citar como processos passíveis de ocorrência concomitante no sistema: digestão anaeróbia, redução de sulfato, nitrificação parcial (formação de nitrito), nitrificação total, desnitrificação heterotrófica convencional, desnitrificação pela via curta (usando nitrito como receptor de elétrons), desnitrificação autotrófica usando sulfeto como doador de elétrons, desnitrificação metilotrófica (usando metano como doador de elétrons), respiração aeróbia, oxidações química e biológica do sulfeto, e até mesmo ANAMMOX (usando nitrito e nitrogênio amoniacal). Torna-se difícil, portanto, a diferenciação destes diferentes processos com os dados obtidos.

A solução para o estudo do sistema proposto e para o avanço no tema da pesquisa reside, neste caso, na compilação de informações concretas que determinem as falhas, sucessos e desempenho geral do sistema no tratamento da água residuária.

Neste sentido, ficou clara a necessidade de melhorias no sistema, principalmente no que se refere ao compartimento intermediário de RA e à nitrificação. Os indícios de que havia mistura de efluentes por todo o compartimento intermediário e fusão das zonas de influência de suas tubulações inferior e superior mostraram que algum dispositivo seria necessário nesta região para impedir caminhos preferenciais entre as duas tubulações, como, por exemplo, uma calha separadora. Esta medida havia sido considerada no projeto do sistema, mas devido à complexidade de instalação desta estrutura no interior do reator, aliada à impossibilidade de acesso a ela depois de sua montagem caso ocorresse algum problema, optou-se finalmente por se adotar apenas um distanciamento entre as tubulações inferior e superior, gerando o espaço “vazio” resultante no compartimento intermediário. No que diz respeito à nitrificação, observou-se que nem sempre seu desempenho foi satisfatório e, portanto, alterações devem ser consideradas na configuração de RB, em especial no que se refere à adição de alcalinidade. Um dos preceitos do projeto inicial do sistema DANDE era a tentativa de manutenção dos processos apenas com compostos endógenos e, portanto, alcalinidade não era

adicionada. Não houve falência do processo por conta disto, mas os baixos valores de pH obtidos principalmente na fase II causaram preocupação relativa à manutenção da nitrificação em longo prazo.

Por outro lado, alguns potenciais e vantagens previstos no projeto do sistema se confirmaram com sucesso durante a operação. Um dos principais objetivos da configuração proposta era a manutenção do sulfeto produzido na digestão anaeróbia ao longo do corpo de RA, sem contatos com a atmosfera e consequentes perdas. Nas análises de monitoramento principalmente da fase I, foi constatada a presença constante de sulfeto desde o efluente do compartimento inferior até o efluente do topo de RA, mostrando que toda a coluna líquida deste reator estava submetida à ação do sulfeto sem perdas, o que é de extrema importância para a ocorrência da desnitrificação autotrófica. Neste quesito, a eventual produção de sulfato em regiões onde se suspeitava estar ocorrendo desnitrificação indica que a configuração do sistema pode ter cumprido seu papel no favorecimento da desnitrificação autotrófica. E, por fim, a baixa presença de CO₂ na composição do biogás de RA sugere que este composto pode ter sido consumido para geração de alcalinidade e que, portanto, a configuração do sistema favoreceu o aproveitamento do biogás como fonte endógena de compostos favoráveis aos processos.

Com relação ao desempenho global do sistema no tratamento de esgoto sanitário, pode-se afirmar que houve melhores eficiências de remoção de nitrogênio na fase II, correspondente à nitrificação de 40 a 60% da vazão do sistema. Nesta fase, foram obtidas eficiências de até 50% de remoção de nitrogênio, com valor médio de 40% no período, e concentração média de 19,42 mg N-NH₄⁺.L⁻¹ no efluente final, valor inferior aos 20 mg N.L⁻¹ de nitrogênio amoniacal total estabelecidos pela Resolução CONAMA n° 357/2005 no que diz respeito aos padrões de emissão (BRASIL, 2005). Este limite, entretanto, passou a ser aplicado somente para efluentes industriais pela Resolução CONAMA n° 397/2008 (BRASIL, 2008). Desta forma, embora não tenha sido possível a identificação precisa de cada processo ocorrendo no sistema, sua configuração foi capaz de promover tratamento secundário e terciário de esgoto sanitário, atendendo à legislação no que se refere ao lançamento de compostos nitrogenados em corpos receptores.

“O homem é feito visivelmente para pensar; é toda sua dignidade e todo seu mérito; e todo o seu dever é pensar bem”

Blaise Pascal (1623-1662)

6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos na presente pesquisa, verificou-se a potencialidade da desnitrificação autotrófica, usando sulfeto como doador de elétrons, para remoção de nitrogênio de parcelas nitrificadas de efluentes de reatores anaeróbios tratando esgoto sanitário. A ocorrência deste tipo de desnitrificação foi observada nas duas primeiras etapas da pesquisa, e houve indícios de sua presença também na terceira etapa. Ficou evidente, em todos os casos, que a desnitrificação autotrófica não ocorreu isoladamente, e que a multiplicidade de processos é característica inerente aos sistemas que a aplicam. Desta forma, a principal conclusão da pesquisa é que é possível promover a desnitrificação autotrófica para remoção de fração do nitrogênio de efluentes de reatores anaeróbios utilizados no tratamento de esgoto sanitário, com conseqüente redução de custos de pós-tratamento, validando, assim, a hipótese inicial do projeto de pesquisa.

Mais especificamente, foi possível concluir que:

- A desnitrificação autotrófica usando sulfeto como doador de elétrons pode ser aplicada para nitrato e nitrito como receptores de elétrons, nas faixas de concentrações usuais a esgotos sanitários. Nas condições estudadas na primeira etapa da pesquisa, o processo ocorre com estabilidade aplicando-se relações $\text{NO}_x^-/\text{S}^{2-}$ inferiores à estequiométrica, e o melhor ajuste cinético ao consumo dos receptores de elétrons é o de ordem zero, com parâmetros ligeiramente superiores para nitrato. A adaptação do processo ocorre de maneira rápida, e pode se dar a partir de lodo heterotrófico, resultando em comunidade mixotrófica em que estão presentes, simultaneamente, microrganismos associados à desnitrificação autotrófica e a processos heterotróficos.

- Levando-se em consideração as características da água residuária aplicada, as proporções entre efluente nitrificado e não-nitrificado que geram o melhor desempenho de remoção global de nitrogênio são obtidas ao se nitrificar 40% e entre 40 e 60% da vazão total dos sistemas, de acordo com a segunda e terceira etapas da pesquisa, respectivamente. Este procedimento resulta na relação molar $\text{NO}_3^-/\text{S}^{2-}$ de 2,1 (segunda etapa) e na remoção, em média, de 40% do nitrogênio presente no afluente usando apenas doadores de elétrons endógenos.
- O processo de desnitrificação autotrófica não é exigente em termos de micronutrientes e alcalinidade, e pode ser mantido em meios complexos contendo grande variedade de compostos, como esgotos sanitários, e sujeitos a condições adversas e atividade heterotrófica. Estes fatos são indicativos da versatilidade do processo, e o definem, portanto, como viável e aplicável em efluentes de reatores anaeróbios utilizados no tratamento de esgotos sanitários.
- A configuração de reator UASB alimentado com mistura de efluentes nitrificado e não-nitrificado, conforme aplicado na segunda etapa da pesquisa, é capaz de promover a desnitrificação autotrófica com eficiência. Entretanto, a perda do sulfeto impossibilita a aplicação de reatores sequenciais para digestão anaeróbia, nitrificação e desnitrificação contendo reservatórios intermediários. A solução proposta através do sistema DANDE possibilita a manutenção do sulfeto no sistema e promove tratamento secundário e terciário de esgotos sanitários, com eficiências de remoção de nitrogênio de até 50 % e atendimento à legislação relativa aos padrões de emissão deste parâmetro. Ainda assim, melhorias são necessárias ao sistema para que sua variada gama de processos internos ocorra com maior organização e eficiência.
- A desnitrificação autotrófica coexiste com outros processos, especialmente com a desnitrificação heterotrófica, conforme comprovado na primeira e segunda etapas da pesquisa e, dependendo das condições, pode predominar sobre eles. Com relação à terceira etapa, porém, não é possível definir e distinguir as contribuições de diferentes processos na remoção de nitrogênio observada.

“A ciência nunca resolve um problema sem criar pelo menos outros dez”

George Bernard Shaw (1856-1950)

7 SUGESTÕES

Como continuação do presente tema de pesquisa, e em função dos resultados obtidos e problemas verificados, sugerem-se as seguintes investigações futuras:

- Aplicação do processo de desnitrificação autotrófica para outros tipos de águas residuárias contendo nitrogênio e enxofre simultaneamente;
- Ensaios com monitoramento abrangente do maior número possível de intermediários do ciclo do enxofre, para elucidação do comportamento destes compostos na desnitrificação autotrófica;
- Ensaios em batelada para determinação contínua de parâmetros cinéticos da desnitrificação autotrófica ao longo do tempo, obtendo-se assim os valores máximos e o período necessário para adaptação completa do processo;
- Melhorias na configuração do sistema DANDE, especialmente no que diz respeito à separação das tubulações inferior e superior do compartimento intermediário de RA e à eficiência da nitrificação, para melhor entendimento e controle do sistema, aliadas a ensaios hidrodinâmicos para elucidação dos fenômenos de mistura no interior do sistema;
- Proposta de outras configurações de sistemas que sejam vantajosas à ocorrência da desnitrificação autotrófica.

“Os livros são abelhas que levam o pólen de uma inteligência a outra”

James Russell Lowell (1819-1891)

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELLER, H. R.; CHAIN, P. S. G.; LETAIN, T. E.; CHAKICHERLA, A.; LARIMER, F. W.; RICHARDSON, P. M.; COLEMAN, M. A.; WOOD, A. P.; KELLY, D. P. (2006). The genome sequence of the obligately chemolithoautotrophic facultatively anaerobic bacterium *Thiobacillus denitrificans*. **Journal of Bacteriology**, v. 188, n. 4, p. 1473-1488.

BERISTAIN-CARDOSO, R.; SIERRA-ALVAREZ, R.; ROWLETTE, P.; RAZO-FLORES, E.; GÓMEZ, J.; FIELD, J. A. (2006). Sulfide oxidation under chemolithoautotrophic denitrifying conditions. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 95, n. 6, p. 1148-1157.

BRASIL. (2005). Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br>>. Acesso em: 10 fev. 2011.

BRASIL. (2008). Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução nº 397, de 3 de abril de 2008. Altera o inciso II do § 4º e a Tabela X do § 5º, ambos do art. 34 da Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA nº 357, de 2005, que dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br>>. Acesso em: 1 maio 2011.

CALLADO, N. H.; FORESTI, E. (2000). Tratamento de esgoto doméstico com remoção de nitrogênio e fósforo em reatores seqüenciais em batelada. In: CONGRESSO INTERAMERICANO DE INGENIERIA SANITARIA Y AMBIENTAL, 2000, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: AIDIS, 2000. CD-ROM.

CAMPOS, J. L.; CARVALHO, S.; PORTELA, R.; MOSQUERA-CORRAL, A.; MÉNDEZ, R. (2008). Kinetics of denitrification using sulphur compounds: effects of S/N ratio, endogenous and exogenous compounds. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 1293-1299.

CLAUS, G., KUTZNER, H. J. (1985). Physiology and kinetics of autotrophic denitrification by *Thiobacillus denitrificans*. **Appl. Microbiol. Biotechnol**, v. 22, p. 283-288.

DARBI, A.; VIRARAGHAVAN, T. (2003). A kinetic model for autotrophic denitrification using sulphur:limestone reactors. **Water Qual. Res. J. Canada**, v. 38, n. 1, p. 183-192.

DILALLO, R.; ALBERTSON, O. E. (1961). Volatile acids by direct titration. **Journal Water Pollution Control Federation**, v. 31, n. 10, p. 2495-2499.

FDZ-POLANCO, F.; FDZ-POLANCO, M.; FERNANDEZ, N.; URUEÑA, M. A.; GARCIA, P. A.; VILLAVARDE, S. (2001). New process for simultaneous removal of nitrogen and sulphur under anaerobic conditions. **Water Research**, v. 35, n. 4, p. 1111-1114.

FERNÁNDEZ, N.; DÍAZ, E. E.; AMILS, R.; SANZ, J. L. (2008). Analysis of microbial community during biofilm development in an anaerobic wastewater treatment reactor. **Microbial Ecology**, v. 56, n. 1, p. 121-132.

FLERE, J. M.; ZHANG, T. C. (1999). Nitrate removal with sulfur-limestone autotrophic denitrification processes. **Journal of Environmental Engineering**, v. 8, p. 721-729.

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

GARBOSSA, L. H. P. (2006). **Avaliação de sistemas anaeróbio-aeróbio com biomassa imobilizada para remoção de matéria carbonácea e nitrogênio de esgoto sanitário e uso do biogás na desnitrificação**. 125 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

GRADY, C. P. L.; LIM, H. C. (1980). **Biological wastewater treatment: theory and applications**. New York: Marcel Dekker, Inc. 963p.

HELLINGA, C., SCHELLEN, A. A. J. C., MULDER, J. W., VAN LOOSDRECHT, M. C. M., HEIJNEN, J. J. (1998). The SHARON process: an innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich waste water. **Water Science and Technology**, v. 37, n. 9, p. 135-142.

HENZE, M.; HARREMÖES, P.; JANSEN, J. L. C.; ARVIN, E. (1997). **Wastewater treatment: biological and chemical processes**. 2nd ed. Lyngby: Springer. 383p.

HIRASAWA, J. S.; SARTI, A.; DEL AGUILA, N. K. S.; VARESCHE, M. B. A. (2008). Application of molecular techniques to evaluate the methanogenic archaea and anaerobic bacteria in the presence of oxygen with different COD:sulfate ratios in a UASB reactor. **Anaerobe**, v. 14, p. 209-218.

IAMAMOTO, C. Y. (2006). **Remoção de nitrogênio de águas residuárias com elevada concentração de nitrogênio amoniacal em reator contendo biomassa em suspensão operado em bateladas seqüenciais e sob aeração intermitente**. 129 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). (2010). Pesquisa nacional de saneamento básico – 2008. Rio de Janeiro, RJ.

JETTEN, M. S. M.; STROUS, M.; VAN DE PAS-SCHOONEN, K. T.; SCHALK, J.; VAN DONGEN, U. G. J. M.; VAN DE GRAAF, A. A.; LOGEMANN, S.; MUYZER, G.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; KUENEN, J. G. (1999). The anaerobic oxidation of ammonium. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 22, p. 421-437.

KALYUZHNYI, S.; GLADCHENKO, M.; MULDER, A.; VERSPRILLE, B. (2006). DEAMOX – New biological nitrogen removal process based on anaerobic ammonia oxidation coupled to sulphide-driven conversion of nitrate into nitrite. **Water Research**, v. 40, p. 3637-3645.

KERSTERS, K.; VOS, P. D.; GILLIS, M.; SWINGS, J.; VANDAMME, P.; STACKEBRANDT, E. (2006). Introduction to the Proteobacteria. In: **The Procarvates**. 3rd ed. Singapore: Springer. v. 5, p. 3-37.

KHIN, T.; ANNACHHATRE, A. P. (2004). Novel microbial nitrogen removal processes. **Biotechnology Advances**, v. 22, p. 519-532.

KIM, H. R.; LEE, I. S.; BAE, J. H. (2003). Performance of a sulphur-utilizing fluidized bed reactor for post-denitrification. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 1591-1597.

KLEEREBEZEM, R.; MENDEZ, R. (2002). Autotrophic denitrification for combined hydrogen sulfide removal from biogas and post-denitrification. **Water Science and Technology**, v. 45, n. 10, p. 349-356.

KOENIG, A.; LIU, L. H. (2001). Kinetic model of autotrophic denitrification in sulphur packed-bed reactors. **Water Research**, v. 35, n. 8, p. 1969-1978.

KOENIG, A.; ZHANG, T.; LIU, L. H.; FANG, H. H. P. (2005). Microbial community and biochemistry process in autotrophic denitrifying biofilm. **Chemosphere**, v. 58, p. 1041-1047.

KRISHNAKUMAR, B.; MANILAL, V. B. (1999). Bacterial oxidation of sulphide under denitrifying conditions. **Biotechnology Letters**, v. 21, p. 437-440.

KUAI, L.; VERSTRAETE, W. (1998). Ammonium removal by the oxygen-limited autotrophic nitrification-denitrification system. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 11, p. 4500-4506.

LANE, D. J. (1991). 16S/23S rRNA sequencing in nucleic acid techniques. In: GOODFELLOW, M; STACKEBRANDT, E. **Bacterial systematics**. New York: John Wiley and Sons, Inc. p. 115-148.

LEVENSPIEL, O. (2000). **Engenharia das reações químicas**. 3a ed. São Paulo: Edgard Blücher.

LUDWIG, W.; STRUNK, O.; WESTRAM, R.; RICHTER, L.; MEIER, H.; YADHUKUMAR, A.; BUCHNER, T.; LAI, S.; STEPPI, G.; JOBB, G. (2004). ARB: a software environment for sequence data. **Nucleic Acids Res**, v. 32, p. 1363-1371.

MAHMOOD, Q.; ZHENG, P.; CAI, J.; WU, D.; HU, B.; ISLAM, E.; AZIM, M. R. (2007). Comparison of anoxic sulfide biooxidation using nitrate/nitrite as electron acceptor. **Environmental Progress**, v. 26, n. 2, p. 169-177.

MANCONI, I.; CARUCCI, A.; LENS, P. (2007). Combined removal of sulfur compounds and nitrate by autotrophic denitrification in bioaugmented activated sludge system. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 98, p. 551-560.

MELVIN, A. N. W. T.; HOBSON, P. P. (1994). Identification of anaerobic digester bacteria using polymerase chain reaction method. **Bioresource Technology**, v. 47, p. 73-80.

METCALF & EDDY, INC. (2003). **Wastewater engineering: treatment and reuse**. 4th ed. New York: McGraw-Hill. 1819p.

MOON, H. S.; AHN, K. H.; LEE, S.; NAM, K.; KIM, J. Y. (2004). Use of autotrophic sulfur-oxidizers to remove nitrate from bank filtrate in a permeable reactive barrier system. **Environmental Pollution**, v. 129, p. 499-507.

MORAES, B. S. (2009). **Utilização de sulfeto como doador de elétrons para a desnitrificação autotrófica aplicada ao tratamento de esgoto sanitário**. 105 f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

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

NIELSEN, A. T.; LIU W. T.; FILIPE, C.; GRADY, L.; MOLIN, S.; STAHL, D. A. (1999). Identification of a novel group of bacteria in sludge from a deteriorated biological phosphorus removal reactor. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 3, p. 1251-1258.

OUDE ELFERINK, S. J.; AKKERMANS-VAN VLIET, W. M.; BOGTE, J. J.; STAMS, A. J. (1999). *Desulfobacca acetoxidans* gen. nov., sp. nov., a novel acetate-degrading sulfate reducer isolated from sulfidogenic granular sludge. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, v. 49, n. 2, p. 345-350.

PÉREZ, R.; GALÍ, A.; DOSTA, J.; MATA-ÁLVAREZ, J. (2007). Biological nitrogen removal (BNR) using sulfides for autotrophic denitrification in a sequencing batch reactor (SBR) to treat reject water. **Ind. Eng. Chem. Res.**, v. 46, p. 6646-6649.

PYNAERT, K.; WYFFELS, S.; SPRENGERS, S.; BOECKX, P.; VAN CLEEMPUT, O.; VERSTRAETE, W. (2002). Oxygen-limited nitrogen removal in a lab-scale rotating biological contactor treating an ammonium-rich wastewater. **Water Science and Technology**, v. 45, n. 10, p. 357-363.

REYES-AVILA, J.; RAZO-FLORES, E.; GOMEZ, J. (2004). Simultaneous biological removal of nitrogen, carbon and sulfur by denitrification. **Water Research**, v. 38, p. 3313-3321.

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

RITTMANN, B. E.; MCCARTY, P. L. (2001). **Environmental biotechnology: principles and applications**. New York: McGraw-Hill. 754p.

SARTI, P. (1998). **Avaliação de desempenho do reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF) no tratamento de substrato sintético simulando esgoto doméstico**. 105 f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1998.

SCHMIDT, I.; SLIEKERS, O.; SCHMID, M.; BOCK, E.; FUERST, J.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M.; STROUS, M. (2003). New concepts of microbial treatment processes for the nitrogen removal in wastewater. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 27, p. 481-492.

SIERRA-ALVAREZ, R.; BERISTAIN-CARDOSO, R.; SALAZAR, M.; GÓMEZ, J.; RAZO-FLORES, E.; FIELD, J. (2007). Chemolithotrophic denitrification with elemental sulfur for groundwater treatment. **Water Research**, v. 41, p. 1253-1262.

SPEECE, R. E. (1983). Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. **Environmental Science & Technology**, v. 17, p. 416A-427A.

STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER (2005). 21st ed. Washington D.C.: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation.

STROUS, M.; VAN GERVEN, E.; ZHENG, P.; KUENEN, J. G.; JETTEN, M. S. M. (1997). Ammonium removal from concentrated waste streams with the anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX) process in different reactor configurations. **Water Research**, v. 31, n. 8, p. 1955-1962.

SUZUKI, T.; YAMASATO, K. (1994). Phylogeny of spore-forming lactic acid bacteria based on 16S rRNA gene sequences. **FEMS Microbiology Letters**, v. 115, n. 1, p. 13-17.

TARLERA, S.; DENNER, E. B. (2003). *Sterolibacterium denitrificans* gen. nov., sp. nov., a novel cholesterol-oxidizing, denitrifying member of the beta-Proteobacteria. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.**, v. 53, n. 4, p. 1085-1091.

TORRES, P. (1992). **Desempenho de um reator de manta de lodo (UASB) de bancada no tratamento de substrato sintético simulando esgotos sanitários**. 185 f. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1992.

TUNDISI, J. G.; MATSUMURA-TUNDISI, T. (1992). Eutrophication of lakes and reservoirs: a comparative analysis, case studies, perspectives. In: **Algae and Environment: a general approach**. Sociedade Brasileira de Ficologia, São Paulo, 131p.

VAIOPOULOU, E.; MELIDIS, P. ALEXANDER, A. (2005). Sulfide removal in wastewater from petrochemical industries by autotrophic denitrification. **Water Research**, v. 39, p. 4101-4109.

VERSTRAETE, W.; PHILIPS, S. (1998). Nitrification-denitrification processes and technologies in new contexts. **Environmental Pollution**, v. 102, p. 717-726.