

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA HIDRÁULICA E  
SANEAMENTO

CAROLINE FABIANE GRANATTO

Remoção de surfactante aniônico alquilbenzeno linear sulfonado em esgoto sanitário em reator anaeróbio de leito granular expandido em escala piloto

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos, SP

2017



CAROLINE FABIANE GRANATTO

**REMOÇÃO DE SURFACTANTE ANIÔNICO ALQUILBENZENO LINEAR  
SULFONADO EM ESGOTO SANITÁRIO EM REATOR ANAERÓBIO DE LEITO  
GRANULAR EXPANDIDO EM ESCALA PILOTO**

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

**Orientadora:** Profa. Dra. Maria Bernadete Amâncio Varesche

**VERSÃO CORRIGIDA**

**São Carlos – SP**

**2017**

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

G748r Granatto, Caroline Fabiane  
Remoção de surfactante aniônico alquilbenzeno linear sulfonado em esgoto sanitário em reator anaeróbico de leito granular expandido em escala piloto / Caroline Fabiane Granatto; orientadora Maria Bernadete Amâncio Varesche. São Carlos, 2017.

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

1. Desulfovibrio. 2. RNAr 16S. 3. Metais Potencialmente Tóxicos. 4. Compostos Recalcitrantes. 5. Geobacter. I. Título.

## FOLHA DE JULGAMENTO

Candidato: Bacharela **CAROLINE FABIANE GRANATTO**.

Título da dissertação: "Remoção de surfactante aniônico alquilbenzeno linear sulfonado em esgoto sanitário em reator anaeróbio de leito granular expandido em escala piloto".

Data da defesa: 23/06/2017.

### Comissão Julgadora:

### Resultado:

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

Aprovada

Prof. Dr. **Pedro Sérgio Fadini**  
(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

Aprovada

Prof. Dr. **Dagoberto Yukio Okada**  
(Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP)

APROVADA

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

Profa. Associada **Maria Bernadete A. Varesche Silva**

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



**À minha mãe Antônia, ao meu irmão Danilo e  
ao meu companheiro Ulisses dedico,  
com imenso amor e gratidão.**

## AGRADECIMENTOS

À minha mãe Antônia, por todo incentivo, palavras de conforto, amor incondicional e por ser meu porto seguro. Obrigada por ser essa mulher forte, me passar segurança por te ter ao meu lado e principalmente obrigada por todo zelo e carinho. Ao meu irmão Danilo, obrigada por sempre me motivar a dedicar-me aos estudos, às longas conversas e apoio emocional. Ao meu companheiro Ulisses por toda ajuda, amizade, conversas, sorrisos e amor. Você foi essencial na minha jornada acadêmica, profissional e pessoal.

À minha orientadora Bernadete, pela oportunidade, dedicação e força. Sua orientação foi além de profissional, contribuiu também no meu amadurecimento. Seus ensinamentos me ajudaram a realizar este trabalho e me impulsionaram a dar o máximo de mim. Mas meu principal obrigado é pela oportunidade de poder realizar um sonho. Ao Professor Edson Luiz Silva pela ajuda no projeto do reator e no planejamento experimental.

À Thaís e Alana do LPB por me ajudarem nos cálculos e maior compreensão do trabalho. Ao Leonardo pela ajuda na instalação experimental na ETE e pelo companheirismo durante todo o trabalho.

Aos meus amigos de S. J. do Rio Preto, Amanda, Bruna, Nayrê, Evelyn, Lara, Muchacho e demais integrantes do Time Azul, obrigada por todas as gargalhadas que sempre me proporcionaram e Gigante por sempre ter me dado “uma mãozinha”.

À família São Carlos, Sanca Badalada, muito obrigada pelo companheirismo, amizade, sorrisos e conselhos. A vida em São Carlos, com certeza, foi muito mais prazerosa com vocês ao meu lado.

A todos os integrantes do LPB, obrigada pela receptividade, disposição em ajudar e amizade. À USP, EESC e SHS pelo profissionalismo. A CAPES pelo auxílio financeiro.



## RESUMO

GRANATTO, C. F. **Remoção de Surfactante Aniônico Alquilbenzeno Linear Sulfonado em Esgoto Sanitário em Reator Anaeróbico de Leito Granular Expandido em Escala Piloto.** 2017. 118F. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

Objetivou-se neste trabalho avaliar a remoção e degradação de surfactante aniônico alquilbenzeno linear sulfonado (LAS) em esgoto sanitário do município de São Carlos – SP empregando o reator anaeróbico de leito granular expandido (EGSB - Expanded Granular Sludge Bed) em escala piloto, com TDH de 36 horas e temperatura mesofílica ( $\pm 35^{\circ}\text{C}$ ), instalado na ETE de São Carlos. Análises físico-químicas e cromatográficas foram realizadas para a caracterização do esgoto sanitário e monitoramento do reator EGSB. Foi observado no esgoto sanitário concentração de DQO bruta e LAS de  $653,50 \pm 169,30 \text{ mg L}^{-1}$  e  $6,189 \pm 3,25 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente. Em relação ao Ferro e metais potencialmente tóxicos, foram observados no esgoto sanitário os seguintes compostos: Cádmio, Chumbo, Ferro, Manganês, Níquel e Zinco. Em relação aos compostos recalcitrantes foram observados Butil Benzenosulfonamida, Ácido Hexadecanóico, Limoneno, Terpineno, Fenol, Álcool Feniletílico, Indolizina, Cafeína e Isobutil Octadecil Ftalato. O reator EGSB foi monitorado durante 314 dias e observou-se para DQO afluente e efluente, respectivamente,  $265,82 \pm 82,36 \text{ mg L}^{-1}$  e  $63,24 \pm 40,67 \text{ mg L}^{-1}$ . Em relação ao LAS observou-se  $7,35 \pm 3,76 \text{ mg L}^{-1}$  e  $3,32 \pm 3,08 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente. Verificou-se  $60,37 \pm 29,84\%$  de remoção de LAS. Observou-se durante toda operação pH próximo a neutralidade ( $7,26 \pm 0,31$ ), alcalinidade total efluente de  $234,61 \pm 64,39 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  e ácidos orgânicos voláteis efluente de  $88,26 \pm 23,68 \text{ mg L}^{-1}$ . Por meio do balanço de massa constatou-se que 56,2% do LAS foram removidos, compreendendo 12,8% por adsorção e 43,4% por biodegradação. Ao longo da operação do EGSB observou-se desestruturação e diminuição do tamanho médio dos grânulos, tal fato corrobora com a maior concentração efluente de sólidos totais e sólidos totais voláteis no primeiro mês e ao final da operação em comparação com a média geral de sólidos efluentes. Foram identificados por meio da plataforma *Illumina MiSeq*, 18 gêneros relacionados a degradação do LAS, tais como *Synergistes*, *Syntrophorhabdus*, *Syntrophus*, *Clostridium*, *Geobacter* e *Desulfovibrio*.

**Palavras-chave:** *Desulfovibrio*, RNAr 16S, Metais Potencialmente Tóxicos, Compostos Recalcitrantes, *Geobacter*.

## ABSTRACT

GRANATTO, C. F. **Removal of Sanitary Sewage's Anionic Surfactant Linear Alkylbenzene Sulphonate in Anaerobic Reactor Expanded in Pilot Scale.** 2017. 118F. Dissertation (Master) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

This study purpose was to evaluate the Anionic Surfactant Linear Alkylbenzene Sulfonate (LAS) in sanitary sewage from the city of São Carlos using an anaerobic expanded granular sludge bed reactor (EGSB), at pilot scale, with 36 hours TDH and ( $\pm 35^{\circ}\text{C}$ ) mesophilic temperature, installed at São Carlos wastewater treatment station. Physical-chemical and chromatographic analyzes were performed for sanitary sewage characterization and EGSB reactor monitoring. It was observed an amount of  $653,50 \pm 169,30 \text{ mg L}^{-1}$  in the raw sewage COD and an amount of  $6,189 \pm 3,25 \text{ mg L}^{-1}$  in LAS. Regarding the potentially toxic metals, the following compounds were observed in the sanitary sewage: Cadmium, Lead, Iron, Manganese, Nickel and Zinc. Concerning recalcitrant compounds, Butyl Benzenesulfonamide, Hexadecanoic Acid, Limonene, Terpinene, Phenol, Phenylethyl Alcohol, Indolizine, Caffeine and Isobutyl Octadecyl Phthalate were observed. The EGSB reactor was monitored for 314 days and was observed for affluent and effluent COD, respectively,  $265.82 \pm 82.36 \text{ mg L}^{-1}$  and  $63.24 \pm 40.67 \text{ mg L}^{-1}$ . In relation to LAS, were observed  $7.35 \pm 3.76 \text{ mg L}^{-1}$  and  $3.32 \pm 3.08 \text{ mg L}^{-1}$ , respectively. There was  $60.37 \pm 29.84\%$  LAS removal. It was observed, during the whole operation, pH close to neutrality ( $7.26 \pm 0.31$ ), total effluent alkalinity of  $234.61 \pm 64.39 \text{ mg.CaCO}_3.\text{L}^{-1}$  and volatile organic acids effluent of  $88.26 \pm 23, 68 \text{ mg L}^{-1}$ . By mass balance it was verified that 56,2% of the LAS were removed, comprising 12,8% by adsorption and 43,4% by biodegradation. During the EGSB operation, it was observed a disintegration and a decrease in the average granules size, fact that corroborates with higher total solids effluent concentration and total volatile solids in the first month and at the end of the operation compared to general effluent solids average. 18 genes related to LAS degradation were identified through the Illumina MiSeq platform, such as *Synergistes*, *Syntrophorhabdus*, *Syntrophus*, *Clostridium*, *Geobacter* and *Desulfovibrio*.

**Keywords:** *Desulfovibrio*, 16S RNAr, Potentially toxic metals, Recalcitrant Compounds, *Geobacter*.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 – Estrutura de um Tensoativo .....	3
Figura 3.2 – Molécula de LAS .....	4
Figura 3.3 – $\omega$ -oxidação .....	7
Figura 3.4 – $\beta$ -oxidação .....	8
Figura 3.5 – Degradação Anaeróbia do LAS .....	9
Figura 4.1 – Fluxograma Experimental.....	17
Figura 4.2 – Esquema do Reator EGSB (medidas em metro e litro) .....	18
Figura 4.3 – Reator EGSB em Escala Piloto Utilizado no Presente Estudo: (1) Pontos de Amostragem (12 Pontos), (2) Parte em PVC (3,1 m), (3) Parte em Acrílico (1 m), (4) Lodo Adensado, (5) Bomba de Recirculação (Diafragma) e (6) Bomba de Alimentação (Diafragma)19	
Figura 4.4 – Reator EGSB Logo Após a Inoculação: (1) Lodo e (2) Grânulos do lodo Adensando .....	20
Figura 4.5 – Grânulos do Reator EGSB Adensados para Medir o $H_0$ .....	25
Figura 5.1 – Variação Temporal de LAS em 12 Horas de Caracterização do Esgoto Sanitário29	
Figura 5.2 – Variação Temporal de LAS em 31 Dias de Caracterização do Esgoto Sanitário 30	
Figura 5.3 – Box Plot das Concentrações de LAS em 31 Dias de Caracterização do Esgoto Sanitário.....	30
Figura 5.4 – Variação Temporal da DQO Bruta em 31 Dias de Caracterização do Esgoto Sanitário.....	32
Figura 5.5 – Box Plot das Concentrações de DQO Bruta em 31 Dias de Caracterização do Esgoto Sanitário.....	32
Figura 5.6 – Variação Temporal da DQO Filtrada em 31 Dias de Caracterização do Esgoto Sanitário.....	33
Figura 5.7 – Box Plot das Concentrações de DQO Filtrada em 31 Dias de Caracterização do Esgoto Sanitário.....	33
Figura 5.8 – Variação temporal da Remoção da Matéria Orgânica .....	44
Figura 5.9 – Variação Temporal da Carga Orgânica Aplicada e da Carga Orgânica Removida para a DQO.....	45
Figura 5.10 – Box Plot da Eficiência de Remoção da DQO Bruta do Primeiro Mês de Operação e da Média Geral de Operação do EGSB.....	46
Figura 5.11 – Variação Temporal da Remoção do LAS .....	48
Figura 5.12 – Box Plot da Eficiência de Remoção LAS até o 3º Mês de Operação e da Média Geral de Operação do EGSB.....	50

Figura 5.13 – Variação Temporal da Carga Aplicada e Carga Removida de LAS .....	53
Figura 5.14 – Destino do LAS .....	57
Figura 5.15 – Distribuição da Frequência do Tamanho dos Grânulos do Lodo de Inóculo e do Reator EGSB .....	59
Figura 5.16 – Box Plot para Distribuição do Diâmetro dos Grânulos do Lodo do Reator EGSB após 180 Dias de Operação, após 314 Dias de Operação e do Lodo de Inóculo .....	60
Figura 5.17 – Microscopia Óptica de Contraste de Fase do Lodo Granular de Inóculo: (1) Bacilos, (2) Bacilos Delgados, (3) Fragmentos de <i>Methanosaeta</i> , (4) Bacilos, (5) Fragmentos de <i>Methanosaeta</i> .....	62
Figura 5.18 – Microscopia Óptica de Contraste de Fase do Lodo Granular do Reator EGSB: (1) <i>Methanosaeta</i> , (2) Bacilos com Inclusões, (3) Bacilos com Inclusões, (4) <i>Methanosaeta</i> .....	63
Figura 5.19 – Filos do Domínio Bacteria e Abundância Relativa das Amostras do Lodo Granular .....	68
Figura 5.20 – Abundância Relativa das Famílias do Domínio Bacteria do Lodo Granular .....	71
Figura 5.21 – Gêneros do Domínio Bacteria e Abundância Relativa do Lodo Granular .....	73
Figura 5.22 – Filos do Domínio Archaea e Abundância Relativa do Lodo Granular .....	78
Figura 5.23 – Famílias do Domínio Archaea e Abundância Relativa do Lodo Granular .....	80
Figura 5.24 – Gêneros do Domínio Archaea e Abundância Relativa do Lodo Granular .....	83

## LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Resumo dos Trabalhos Realizados no Laboratório de Processos Biológicos (LPB) para Remoção de LAS em Reatores Anaeróbios.....	11
Tabela 3.2 – Influência do TDH na Remoção de LAS em Reatores UASB e EGSB .....	13
Tabela 4.1 – Parâmetros de Operação do Reator EGSB .....	20
Tabela 4.2 – Sólidos Totais, fixos e voláteis do lodo de inóculo .....	21
Tabela 4.3 – Parâmetros de Caracterização do Esgoto Sanitário .....	23
Tabela 4.4 – Análises de Monitoramento do Reator EGSB .....	24
Tabela 5.1 – Concentração do LAS em Esgoto Sanitário do Município de São Carlos-SP em 12 Horas.....	28
Tabela 5.2 – Caracterização do LAS em Esgoto Sanitário do Município de São Carlos – SP durante 31 Dias.....	29
Tabela 5.3 – Caracterização da DQO Bruta e Filtrada do Esgoto Sanitário do Município de São Carlos – SP durante 31 Dias .....	31
Tabela 5.4 – Valores de pH, Alcalinidade Parcial e Total do Esgoto Sanitário de São Carlos - SP.....	34
Tabela 5.5 – Ácidos Orgânicos Voláteis no Esgoto Sanitário de São Carlos - SP.....	34
Tabela 5.6 – Sulfato e Sulfeto do Esgoto Sanitário de São Carlos - SP.....	35
Tabela 5.7 – Nitrito, Nitrato e NTK do Esgoto Sanitário de São Carlos - SP e Valores Máximos Permitidos para Águas Doces.....	36
Tabela 5.8 – Série de Sólidos do Esgoto Sanitário de São Carlos - SP .....	36
Tabela 5.9 – Ferro e Metais Potencialmente Tóxicos no Esgoto Sanitário de São Carlos - SP	37
Tabela 5.10 – Compostos Recalcitrantes Detectados no Esgoto Sanitário de São Carlos - SP	38
Tabela 5.11 – Compostos Recalcitrantes Detectados no Esgoto Sanitário de São Carlos - S .	39
Tabela 5.12 – Parâmetros de Monitoramento do Reator EGSB.....	42
Tabela 5.13 – Valores Médios de DQO do Reator EGSB .....	43
Tabela 5.14 – Valores Médios de LAS do Reator EGSB.....	47
Tabela 5.15 – Concentração de LAS Afluente e Porcentagem de Remoção do Reator EGSB nos Primeiros Meses e Durante Toda a Operação.....	48
Tabela 5.16 – Ácidos, Concentração de LAS Afluente e Remoção de LAS em 270 Dias e 314 Dias de Operação do Reator EGSB.....	54
Tabela 5.17 – Balanço Global de LAS .....	56
Tabela 5.18 – Valores Médios dos Sólidos Afluente e Efluentes do Reator EGSB .....	58

Tabela 5.19 – Número de Sequências, OTUs Com e Sem Singletons, Cobertura de <i>Good</i> e Tamanhos dos Fragmentos para o Domínio Bactéria .....	64
Tabela 5.20 – Número de Sequências, OTUs Com e Sem Singletons, Cobertura de <i>Good</i> e Tamanhos dos Fragmentos para o Domínio Archaea .....	66
Tabela 5.21 – Filos do Domínio Bacteria e Sua Abundância Relativa das Amostras de Lodo Granular .....	67
Tabela 5.22 – Família Abundância Relativa do Lodo Granular .....	70
Tabela 5.23 – Gênero do Domínio Bacteria e Abundância Relativa do Lodo Granular .....	72
Tabela 5.24 – Gêneros do Domínio Bacteria Relacionados com a Degradação do LAS e suas Respectivas Abundâncias Relativas.....	75
Tabela 5.25 – Características dos Gêneros Relacionados a Degradação do LAS .....	76
Tabela 5.26 – Filos do Domínio Archaea e Abundância Relativa do Lodo Granular .....	77
Tabela 5.27 – Famílias do Domínio Archaea e Abundância Relativa do Lodo Granular .....	79
Tabela 5.28 – Gêneros do Domínio Archaea e Abundância Relativa do Lodo Granular.....	82

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

APHA	<i>American Public Health Association</i>
BCF	Fator de Bioconcentração
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CG/MS	<i>Gas Chromatography – Mass Spectrometry</i>
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CMC	Concentração Micelar Crítica
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CSTR	<i>Continuous Stirred – Tankreactor</i>
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EESC	Escola de Engenharia de São Carlos
EGSB	<i>Expanded Granular Sludge Bed</i>
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
LAS	<i>Linear Alkylbenzene Sulfonates</i>
LC50	<i>Lethal Concentration</i>
LPB	Laboratório de Processos Biológicos
NTK	Nitrogênio Total Kjeldahl
pH	Potencial Hidrogeniônico
RAHLF	Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo
RLF	Reator de Leito Fluidificado
SAAE	Serviço Autônomo de Água e Esgoto
SPC	Sulfofenil Carboxilato
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica
TPS	Tetrapropilbenzeno Sulfonado
UASB	<i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i>

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\omega$	Ômega
$\beta$	Beta
m	Metro
$m^3$	Metro cúbico
cm	Centímetro
$m^2$	Metro quadrado
L	Litro
$L h^{-1}$	Litro por hora
g	Gramma
$g L^{-1}$	Gramma por Litro
$^{\circ}C$	Grau Celsius
$\mu L$	Microlitro
mm	Milímetro
$\mu m$	Micrômetro
$mL min^{-1}$	Milímetro por minuto
min	Minuto
eV	Elétron-volt
$Seg scan^{-1}$	Segundo por escaneamento
$mgCaCO_3 L^{-1}$	Miligrana de carbonato de cálcio por litro
$\leq$	Menor ou igual
mL	Mililitro
ng	Nano grama
$ng \mu L^{-1}$	Nano grama por microlitro
$mg LAS.L^{-1}$	Miligrama de LAS por litro
$\pm$	Mais ou menos
$n^{\circ}$	Número
$mgDQO L^{-1}$	Miligrama de DQO por litro
$mgSO_4 L^{-1}$	Miligrama de sulfato por litro
$mgS L^{-1}$	Miligrama de sulfeto por litro



$\text{mgN-NH}_4^+ \text{ L}^{-1}$	Miligrama de nitrogênio amoniacal por litro
$\text{mgN L}^{-1}$	Miligrama de nitrogênio por litro
<LD	Menor que o limite de detecção
$\text{mgCd L}^{-1}$	Miligrama de cádmio por litro
$\text{mgPb L}^{-1}$	Miligrama de chumbo por litro
$\text{mgCu L}^{-1}$	Miligrama de cobre por litro
$\text{mgCr L}^{-1}$	Miligrama de cromo por litro
$\text{mgFe L}^{-1}$	Miligrama de ferro por litro
$\text{mgMn L}^{-1}$	Miligrama de manganês por litro
$\text{mgNi L}^{-1}$	Miligrama de níquel por litro
$\text{mgZn L}^{-1}$	Miligrama de zinco por litro
TR	Tempo de retenção do composto na coluna
#Pico	Número de pico pela ordem de eluição da coluna
%A	Porcentagem de área normalizada
$\text{mgLAS m}^{-3} \text{ d}^{-1}$	Miligrama de LAS por metro cúbico por dia
$\text{KgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$	Quilograma de DQO por metro cúbico por dia

## SUMÁRIO

1. Introdução .....	1
2. Objetivos .....	2
2.1. Objetivo Geral .....	2
2.2. Objetivos Específicos.....	2
3. Revisão Bibliográfica.....	3
3.1. Surfactantes .....	3
3.2. Toxicidade e Impacto Ambiental .....	4
3.3. Biodegradação do LAS .....	6
3.4. Diversidade Microbiana.....	14
4. Material e Métodos .....	16
4.1. Etapas de Operação e Estrutura dos Experimentos .....	16
4.2. Descrição do Reator .....	17
4.3. Inóculo .....	20
4.4. Alimentação .....	21
4.5. Caracterização do Esgoto Sanitário .....	21
4.6. Monitoramento do Reator EGSB: Análises Físico-Químicas e Cromatográficas ..	23
4.7. Monitoramento da Expansão do Leito do Reator EGSB .....	25
4.8. Adsorção de LAS.....	25
4.9. Granulometria .....	26
4.10. Balanço de Massa do LAS.....	26
4.11. Exames Microscópicos.....	26
4.12. Caracterização Microbiana .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
4.12.1. Extração de DNA .....	27
4.12.2. Sequenciamento do Gene RNAr 16S.....	27
5. Resultados e Discussão .....	28
5.1. Caracterização do Esgoto Sanitário .....	28

<b>5.2. Monitoramento do Reator EGSB</b> .....	41
<b>5.2.1. Alcalinidade, pH, Sulfato e Sulfeto</b> .....	41
<b>5.2.2. Remoção da Matéria Orgânica e LAS</b> .....	43
<b>5.2.3. Ácidos Orgânicos Voláteis</b> .....	54
<b>5.2.4. Balanço de Massa de LAS</b> .....	56
<b>5.2.5. Granulometria e Sólidos</b> .....	57
<b>5.2.6. Microscopia de Contraste de Fase</b> .....	62
<b>5.2.7. Caracterização Microbiana</b> .....	64
<b>5.2.7.1. Domínio Bacteria</b> .....	67
<b>5.2.7.2. Domínio Archaea</b> .....	77
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	84
<b>7. Sugestões para Trabalhos Futuros</b> .....	86
<b>8. Referências Bibliográficas</b> .....	87



## 1. Introdução

Os surfactantes (agentes orgânicos de atividade superficial) são um grupo de diversos produtos químicos conhecidos principalmente pelos seus usos em detergentes, produtos de higiene pessoal e outros produtos de limpeza. Seus resíduos são comumente lançados em altas quantidades nas redes de esgotos, ou diretamente em águas superficiais sem tratamento adequado e acabam dispersos em diferentes compartimentos ambientais, como solo, água ou sedimentos. Esses surfactantes residuais podem causar graves alterações à biota devido a sua propriedade de diminuir a tensão superficial água/ar e muitos organismos aquáticos dependem fundamentalmente desta tensão superficial.

Outro fator preocupante é sua capacidade em dissipar poluentes através da formação de espumas e inibir microrganismos responsáveis pelos processos de depuração natural, configurando uma situação prejudicial no que diz respeito à saúde da população e conservação ambiental. Por isto é muito importante a realização de estudos sobre a biodegradação e remoção do surfactante aniônico alquilbenzeno linear sulfonado (LAS), bem como desenvolver tecnologias economicamente viáveis que permitam sua aplicação em sistemas de tratamento para a melhoria sanitária do esgoto doméstico e água residuária.

Os tensoativos aniônicos (de carga negativa) são os surfactantes mais comuns, como o LAS, que foi introduzido no mercado mundial, em 1964, após a primeira geração de surfactantes, representada pelo tetrapopilbenzeno sulfonado (TPS), que foi substituído devido a sua difícil biodegradação e consequentes problemas ambientais (SCOTT; JONES, 2000).

A remoção e degradação anaeróbia de LAS de águas residuárias foram avaliadas em reator de tanque agitado contínuo (*continuous stirred-tank reactor* – CSTR) (HAGGENSEN et al., 2002), reator anaeróbio horizontal de leito fixo (DUARTE et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2009), reator operado em bateladas sequenciais (DUARTE et al., 2010b), reator de leito fluidificado (OLIVEIRA et al., 2010), reator de leito granular expandido (Expanded Granular Sludge Bed – EGSB) (DELFORNO et al., 2015) e em reator de manta de lodo e fluxo ascendente (Upflow Anaerobic Sludge Blanket – UASB) (OKADA et al., 2014).

O EGSB é uma inovação do reator UASB (CHEN et al., 2011). Os dois reatores são semelhantes, pois ambos são inoculados com lodo granular, mas a hidrodinâmica é diferente devido à maior velocidade ascensional do EGSB em comparação ao UASB, pois a sua altura em relação ao diâmetro é maior, ou seja, sua mistura hidráulica é mais intensa, além de ter alta taxa de recirculação. O contato do microrganismo com o substrato no reator EGSB é

melhorado devido às altas cargas hidráulicas aplicadas, que criam uma turbulência devido a expansão do leito e conseqüente distribuição uniforme do afluente, melhorando assim o transporte de substrato para os microrganismos (PUYOL et al., 2009). Outra vantagem dessa configuração reacional trata-se da recirculação, a qual além de diluir o afluente, favorece a remoção de compostos tóxicos, e também melhora a transferência de massa, por conseguinte, para a remoção de compostos recalcitrantes, como o LAS (KATO et al., 1994; SEGHEZZO et al., 1998; OLIVEIRA et al., 2010; DELFORNO et al., 2012).

No Laboratório de Processos Biológicos (LPB) – Escola de Engenharia de São Carlos/USP, existe um grupo de pesquisa que estuda a remoção e degradação anaeróbia do LAS em águas residuária de lavanderia por meio da aplicação de reator RHLF, reator RLF, reator operado em bateladas sequenciais, UASB e EGSB. Apesar dos avanços tecnológicos das pesquisas desenvolvidas até o momento, é necessário o desenvolvimento de estudos que se aproximem mais à realidade das estações de tratamento de esgoto sanitário. Para tanto, este trabalho foi realizado na Estação de Tratamento de Esgoto de São Carlos – SP (SAAE – Serviço Autônomo de Água e Esgoto) utilizando-se do afluente à ETE para alimentação do reator EGSB em escala piloto.

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo Geral**

O objetivo principal deste trabalho foi avaliar a remoção e degradação do surfactante aniônico LAS em esgoto sanitário da ETE de São Carlos-SP em reator EGSB em escala piloto.

### **2.2. Objetivos Específicos**

- (i) Avaliar o esgoto sanitário da ETE por meio de caracterização físico-química e cromatográfica.
- (ii) Avaliar a remoção de LAS e da matéria orgânica em função do tempo de operação;
- (i) Avaliar os ácidos orgânicos voláteis durante a operação do EGSB;
- (ii) Avaliar o LAS adsorvido no lodo granular;
- (iii) Avaliar comparativamente o diâmetro médio dos grânulos do inóculo e do reator EGSB;

- (iv) Avaliar a diversidade de bactérias e arqueias do lodo granular do inóculo e do reator EGSB;

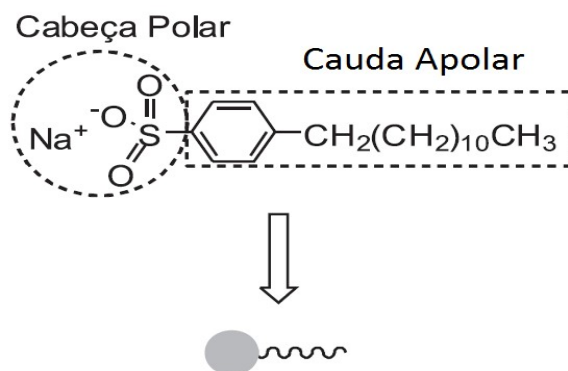
### 3. Revisão Bibliográfica

#### 3.1. Surfactantes

Os surfactantes, também chamados de Tensoativos, alteram as propriedades superficiais e interfaciais dos líquidos. Quando estão dissolvidos em água passam a existir como monômeros e em concentrações mais elevadas possuem tendência em formar agregados chamados de micelas, cujo limiar de concentração em que isso ocorre é conhecido como concentração micelar crítica (CMC). Estas propriedades os tornam adequados para diversas aplicações industriais, tais como, detergência, lubrificação, emulsificação, capacidade espumante, solubilização e dispersão de fases (IVANKOVIĆ; HRENOVIĆ, 2010).

Esses agentes orgânicos (Figura 3.1) são uma mistura complexa de vários fosfolipídios, proteínas e íons, que não se dissolvem uniformemente na água por serem substâncias estruturalmente anfipáticas, ou seja, que consistem em um solvente polar (cabeça hidrofílica) que se dissolve na água, e duas caudas hidrofóbicas (grupo de hidrocarboneto não polar), conferindo a capacidade de reduzir a tensão superficial da água (uma de suas principais características).

Figura 3.1 - Estrutura de um Tensoativo.



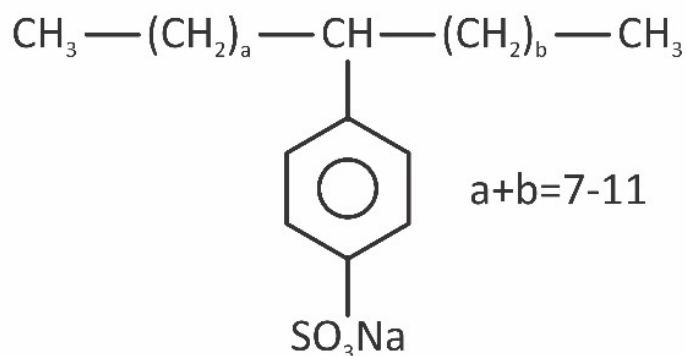
Fonte: Rinaldi et al.(2007).

O LAS é produzido em larga escala mundialmente, pois é utilizado em formulações cujas principais características requerem a formação de espuma (mesmo em pequenas concentrações), propriedades de solubilidade favorável, controle fácil de sua sensibilidade à

dureza da água e baixo custo (GARCÍA et al., 2005). Em 2012, as importações de tensoativos corresponderam a 20% do faturamento do mercado brasileiro (BAIN & COMPANY; GAS ENERGY, 2014).

A molécula do LAS (Figura 3.2) contém um anel aromático sulfonado na posição – para ligado a uma cadeia alquílica linear que pode variar de tamanho. Esse surfactante é comercializado como uma mistura de isômeros e homólogos, em que os isômeros variam em função da posição do anel aromático sulfonado na cadeia alquílica (exceto nos carbonos terminais) e os homólogos variam de acordo com o comprimento da cadeia alquílica (de 10 a 14 átomos de carbono). Este surfactante é produzido pela sulfonação da sua matéria prima alquilbenzeno linear (LAB), que é feito através da alquilação de Friedel-Crafts do benzeno com olefinas lineares ou haletos de alquila (PENTEADO; EL SEOUD; CARVALHO, 2006).

Figura 3.2 - Molécula de LAS.



Fonte: Penteado, El Seoud e Carvalho (2006).

### 3.2. Toxicidade e Impacto Ambiental

A produção mundial de LAS cresce de forma exponencial devido ao seu enorme uso todos os dias, em torno de 2,8 milhões de toneladas anuais, pois o LAS está presente em diversas formulações, como de detergentes de uso doméstico e industrial, tecidos, tintas, polímeros, pesticidas, produtos farmacêuticos, mineração, recuperação de vazamento de óleo, e nas indústrias de celulose e papel (GARCÍA et al., 2005). Segundo a Bain & Company; Gas Energy, (2014), o mercado de produtos de limpeza doméstica é o setor que mais consome tensoativos no Brasil e estima-se um crescimento anual médio de 8,9% entre 2013 e 2017.



Devido a propriedade dos surfactantes de diminuir a tensão superficial da água/ar, esta pode causar alterações graves à biota, pois muitos organismos aquáticos dependem fundamentalmente desta tensão superficial, além de também esta características dissipar poluentes através da formação de espumas e inibir microrganismos responsáveis pelos processos de depuração natural, configurando situação prejudicial no que diz respeito à saúde da população e conservação ambiental (IVANKOVIĆ; HRENOVIĆ, 2010).

Alguns surfactantes, tais como os catiônicos (de carga positiva), podem causar efeitos leves, como irritação nos olhos e na pele (THORSTEINSSON et al., 2003; IVANKOVIĆ; HRENOVIĆ, 2010), outros tensoativos aniônicos podem causar poluição ambiental grave, como efeitos tóxicos em órgãos de animais e humanos, pois seu caráter anfotérico facilita sua acumulação em organismos vivos (CSERHÁTI; FORGÁCS; OROS, 2002; CAVALCANTE; MARINHO; A. BARBOSA, 2014).

A toxicidade do LAS é relacionada com o tipo de agrupamento polar ligado a cadeia, e com sua cadeia alquílica apolar, pois cadeias alquílicas mais longas podem causar efeitos mais severos (CAVALCANTE; MARINHO; A. BARBOSA, 2014). Penteadó; El Seoud; Carvalho, (2006) observaram para *Daphnia magna* que a LC50 (*lethal concentration* - concentração letal para 50% dos indivíduos expostos) foi de 13,9 mg L<sup>-1</sup> para o homólogo de LAS com 10 átomos de carbono (C10), enquanto para aquele com 14 átomos de carbono (C14), a LC50 foi de apenas 1,22 mg L<sup>-1</sup>. Ainda, segundo Oliveira et al., (2010), a proximidade do grupo aromático com a extremidade da cadeia alquílica potencializa as propriedade hidrofóbicas e hidrofílicas, acentuando suas respectivas interações e consequentemente aumentando a toxicidade do LAS conforme o posicionamento do grupo aromático na molécula.

Os surfactantes podem ligar-se aos peptídeos, enzimas e ácidos nucleicos, alterando o dobramento da cadeia polipeptídica e a carga superficial de uma molécula, consequentemente, modificando as funções biológicas das proteínas sintetizadas (IVANKOVIĆ; HRENOVIĆ, 2010; CSERHÁTI; FORGÁCS; OROS, 2002). Tolls et al., (2000) observaram que trutas-arco-íris juvenis (*Oncorhynchus mykiss*), de 5 meses de idade com 0,5 g em média de peso, acumularam LAS pelas guelras, e o fator de bioconcentração (BCF) variou entre 1,4 e 372 LKg<sup>-1</sup>. A acumulação aumentou rapidamente em órgãos internos como o fígado, sugerindo que o LAS entra rapidamente na circulação sistêmica.

Os efeitos tóxicos dos tensoativos abrangem bactérias, não somente dificultando a depuração natural, mas também dificultando o crescimento de plantas aquáticas e causando efeitos tóxicos em invertebrados e vertebrados (IVANKOVIĆ; HRENOVIĆ, 2010). Helenius A & Simons K, (1975) afirmaram que os surfactantes são tóxicos aos microrganismos, pois causam ruptura na membrana celular através de interações com os componentes lipídicos, além de reagirem com enzimas fundamentais para funcionamento das células.

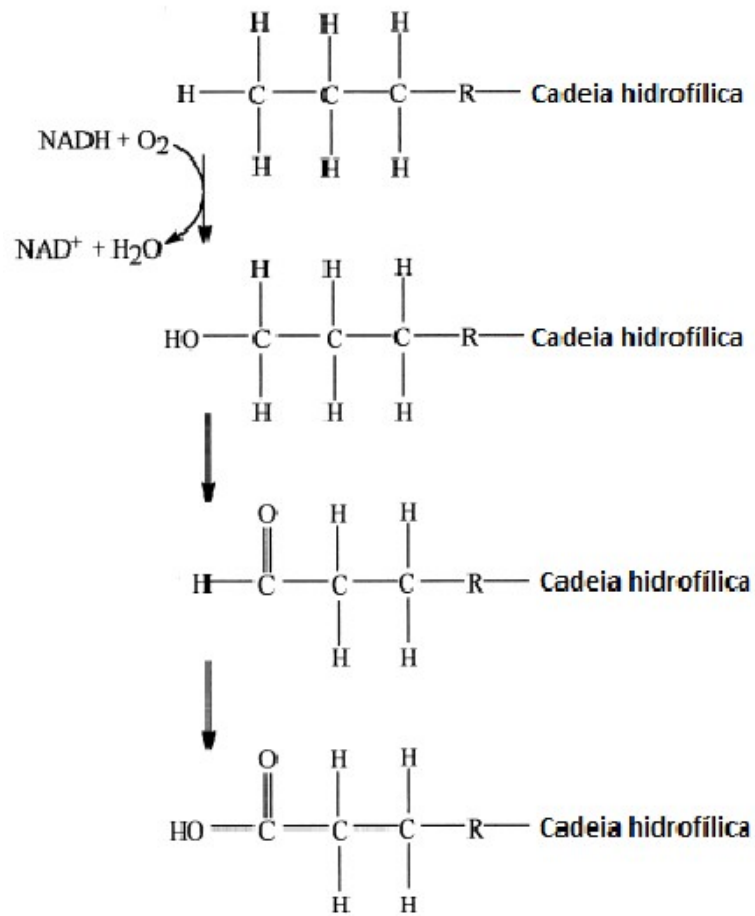
Mieure et al., (1990) observaram efeitos nocivos a plantas hidropônicas expostas ao LAS, pois as membranas de células radiculares das plantas foram destruídas devido a modificações na permeabilidade, interferindo em processos fisiológicos e fotossintéticos, quando expostas a 10 e 40 mgLAS Kg<sup>-1</sup>. Venhuis e Mehrvar, (2004), avaliaram que 40 a 60 mg.LAS.L<sup>-1</sup> causam prejuízos ao crescimento e reprodução dos invertebrados, como anelídeos e crustáceos, gerando graves problemas à biota de ambientes marginais lênticos e lóticos.

Segundo Nikpay; Lazik; Krebs, (2015), os tensoativos também podem afetar a permeabilidade do solo reduzindo o tamanho dos poros. A presença de surfactantes acarreta problemas ao ecossistema de uma forma geral, como a diminuição da permeabilidade da luz, aumento da concentração de xenobióticos, disseminação de impurezas, problemas de difusão de oxigênio e manutenção de partículas suspensas, além de problemas estéticos como a formação de espumas (GARCÍA et al., 2005).

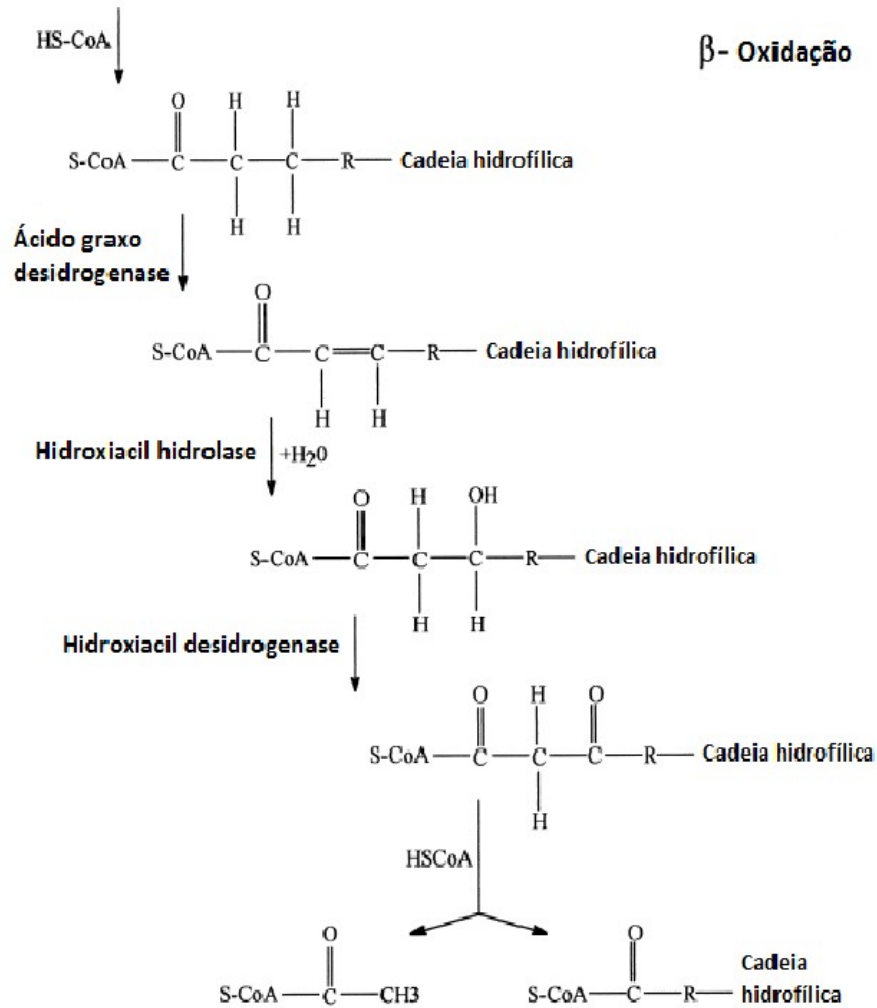
### **3.3. Biodegradação do LAS**

Biodegradação é a decomposição de um produto químico por meio das atividades metabólicas dos microrganismos. A degradação primária de um surfactante ocorre quando ele perde suas propriedades, enquanto a degradação secundária é quando sua molécula é transformada em CO<sub>2</sub>, água, sais minerais e biomassa, em condições aeróbias (SCOTT; JONES, 2000).

A biodegradação aeróbia do LAS inicia-se pela quebra da cadeia alquílica através da oxidação do grupo metila terminal ( $\omega$ -oxidação) (Figura 3.3). A oxidação é feita pelo ácido carboxílico que pode sofrer  $\beta$ -oxidação (Figura 3.4). Como a cadeia lateral não pode ser submetida a  $\beta$ -oxidação pelos microrganismos, ocorrerá a  $\alpha$ -oxidação com a retirada de um átomo de carbono de cada vez. A segunda fase da biodegradação do LAS é feita pela retirada do grupo sulfonato (SCOTT; JONES, 2000).

Figura 3.3 -  $\omega$ -oxidação.**( $\omega$ )- Oxidação**

Fonte: Scoot, Jones (2000).

Figura 3.4 -  $\beta$ -oxidação.

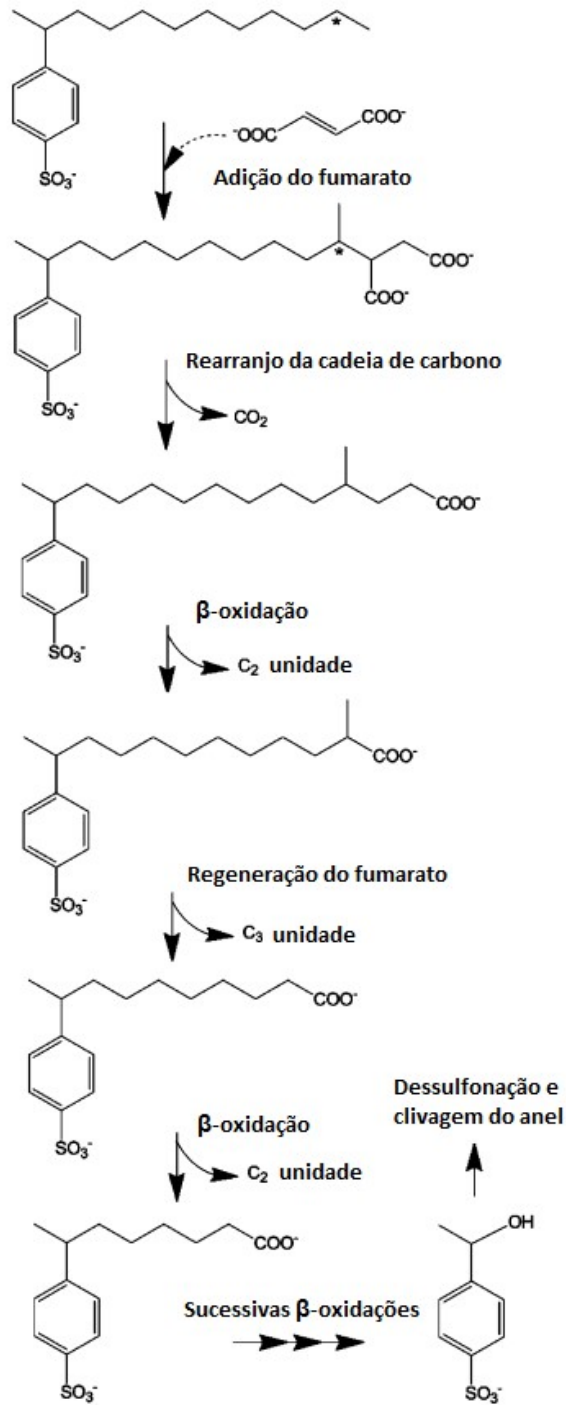
Fonte: Scoot, Jones (2000).

O tempo de meia vida para remoção natural do LAS através da biodegradação em águas continentais é de aproximadamente 3 h segundo testes laboratoriais. Na camada superficial do solo, a remoção é de 1 a 5 dias, dependendo da composição do solo, mas pode aumentar de 5 a 27 dias de acordo com o homólogo do LAS nesse ambiente (PENTEADO; EL SEOUD; CARVALHO, 2006).

Lara-Martín *et al.*, (2010) propuseram um caminho de degradação do LAS em sedimentos marinho anóxico, cujos testes foram realizados em batelada, por meio da transformação de LAS em Sulfonilcarboxilato (SPC), seguida de sucessivas reações de  $\beta$ -oxidação (Figura 3.5). Na rota de degradação proposta pelos autores, há formação de ácidos carboxílicos pela adição de fumarato a cadeia alquílica do LAS. Depois ocorreram a

descarboxilação e sucessivas  $\beta$ -oxidações, formando diferentes homólogos de SPC que pode ser utilizado para regeneração do fumarato.

Figura 3.5 - Degradação Anaeróbica do LAS.



Fonte: Lara-Martínet *al.*, (2010).

A remoção anaeróbia de LAS depende de vários fatores, tais como, tempo de detenção hidráulica (TDH), presença de co-substratos, carga do LAS, estabilidade do processo (baixa concentração de ácidos voláteis) e presença de consórcio de bactérias. Esses aspectos foram avaliados em reator UASB (LOBNER et al., 2005; OKADA et al., 2013a), reator de leito fluidificado (OLIVEIRA et al., 2010) e EGSB (DELFORNO et al., 2015).

No Laboratório de Processos Biológicos (LPB), desde 2007, reatores biológicos têm sido utilizados para a remoção anaeróbia do LAS, como reator anaeróbio de leito fluidificado (RALF) (ANDRADE et al., 2017; BRAGA et al., 2015; CAROSIA et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2010), reator anaeróbio horizontal de leito fixo (DUARTE et al., 2010a), reator anaeróbio em batelada sequencial (DUARTE et al., 2010b), reator UASB (OKADA et al., 2014) e reator EGSB (DELFORNO et al., 2015).

Delforno et al., (2015) avaliaram a remoção de LAS em reator EGSB alimentado com água residuária de lavanderia e TDH de 38h. Tais autores observaram maior remoção de LAS (92,9%) para menor concentração afluyente de LAS ( $12 \text{ mg L}^{-1}$ ). Faria, (2015) avaliou a remoção de LAS em reator EGSB, com TDH de 36h e  $18,8 \text{ mg L}^{-1}$  de LAS afluyente, alimentado com água residuária de lavanderia diluída em água de abastecimento e esgoto sanitário. A maior remoção de LAS foi observada quando o reator EGSB foi alimentado com água residuária de lavanderia diluída em água de abastecimento (77%). Quando o reator foi alimentado com água residuária de lavanderia diluída em esgoto sanitário, a remoção de LAS observada foi de 55%. Okada et al., (2014) operaram reator UASB, com TDH de 35h, alimentado com água residuária de lavanderia ( $11 \text{ mg L}^{-1}$  de LAS afluyente) e água residuária de lavanderia suplementada com co-susbratos ( $10 \text{ mg L}^{-1}$  de LAS afluyente). Tais autores observaram maior remoção de LAS (82%) com adição de co-susbratos na alimentação do reator. Em relação ao reator RALF, foi observado maior remoção de LAS para o reator alimentado com LAS padrão suplementado com extrato de levedura e sacarose (OLIVEIRA et al., 2010) e alimentado com água residuária de lavanderia suplementado com nitrato (ANDRADE et al., 2017).

A Tabela 3.1 apresenta maiores detalhes sobre os trabalhos realizados no LPB para remoção de LAS fazendo uso de reatores anaeróbios.

Tabela 3.1 – Resumo dos Trabalhos Realizados no Laboratório de Processos Biológicos (LPB) para Remoção de LAS em Reatores Anaeróbios.

Reator	Alimentação	TDH	LAS afluente	% remoção	Referência
RALF	Água residuária de lavanderia + etanol	8h	18,6 - 27 mg L <sup>-1</sup>	90%	(ANDRADE et al., 2017)
RALF	Água residuária de lavanderia + nitrato	12h	18,6 - 27 mg L <sup>-1</sup>	99%	(ANDRADE et al., 2017)
RALF	Água residuária de lavanderia + substrato sintético	18h	24 mg L <sup>-1</sup>	68%	(BRAGA et al., 2015a)
RALF	LAS padrão + extrato de levedura + sacarose	18h	20 mg L <sup>-1</sup>	98%	(OLIVEIRA et al., 2010)
RALF	Água residuária de lavanderia	18h	21,7 mg L <sup>-1</sup>	80%	(MACEDO et al., 2015a)
<b>Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo</b>	Extrato de levedura, Amido e sacarose	12h	15 mg L <sup>-1</sup>	40%	(DUARTE et al., 2010a)
<b>Reator Anaeróbio em Batelada Sequencial</b>	Extrato de levedura, Amido e sacarose	24h	22 mg L <sup>-1</sup>	36% (degradação)	(DUARTE et al., 2010b)
UASB	Metanol + etanol + extrato de levedura	35h	10 mg L <sup>-1</sup>	82%	(OKADA et al., 2014)
UASB	Água residuária de lavanderia	35h	11 mg L <sup>-1</sup>	45%	(OKADA et al., 2014)
EGSB	Água residuária de lavanderia	38h	12 mg L <sup>-1</sup>	92,9%	(DELFORNO et al., 2015)
EGSB	Água residuária de lavanderia	38h	29 mg L <sup>-1</sup>	58,6%	(DELFORNO et al., 2015)
EGSB	Água residuária de lavanderia + esgoto sanitário	36h	18,8 mg L <sup>-1</sup>	77-55%	(FARIA, 2015)

Em relação ao TDH, foi observado para o reator EGSB e UASB, maior remoção de LAS com valores mais elevados de TDH, provavelmente devido ao aumento do tempo de contato entre a biomassa e o LAS. A seguir, na Tabela 3.2 está inserida a comparação entre TDH e remoção de LAS para os reatores UASB e EGSB de acordo com Lobner et al., (2005); Okada, (2012); Delforno et al., (2012) e Faria, (2015).

Para o reator UASB alimentado sob as mesmas condições, água residuária sintética, co-substratos e  $12 \text{ mg L}^{-1}$  de LAS, pode-se observar maior remoção de LAS (55%) para maior TDH (80h) e menor remoção de LAS (18%) para menor TDH (6h) (OKADA, 2012). Em relação ao reator EGSB, quando alimentado sob as mesmas condições, meio mineral suplementado e  $14 \text{ mg L}^{-1}$  de LAS, foi observado maior remoção de LAS (77%) para maior TDH (36h) e menor remoção de LAS (48%) para menor TDH (26h) (DELFORNO et al., 2012).



Tabela 3.2 – Influência do TDH na Remoção de LAS em Reatores UASB e EGSB.

Reator	Inóculo	Alimentação	TDH	LAS afluyente	% remoção	Referência
UASB	Mistura de lodo granular de fábrica de lactato e lodo digerido de ETE	-	2 dias	10 mg L <sup>-1</sup>	80%	(LOBNER et al., 2005)
UASB	Lodo granular de abatedouro de aves	Água residuária sintética + co-substratos	80h	12-13 mg L <sup>-1</sup>	55%	(OKADA, 2012)
UASB	Lodo granular de abatedouro de aves	Água residuária sintética + co-substratos	35h	12-13 mg L <sup>-1</sup>	37-53%	(OKADA, 2012)
UASB	Lodo granular de abatedouro de aves	Água residuária sintética + co-substratos	6h	12-13 mg L <sup>-1</sup>	18%	(OKADA, 2012)
EGSB	Lodo granular de abatedouro de aves	Meio mineral suplementado	32h	14 mg L <sup>-1</sup>	64%	(DELFORNO et al., 2012)
EGSB	Lodo granular de abatedouro de aves	Meio mineral suplementado	26h	14 mg L <sup>-1</sup>	48%	(DELFORNO et al., 2012)
EGSB	Lodo granular de abatedouro de aves	Água residuária de lavanderia + esgoto sanitário	36h	18,8 mg L <sup>-1</sup>	77-55%	(FARIA, 2015)

### 3.4. Diversidade Microbiana

Ter informações detalhadas sobre a microbiota do reator é de crucial importância para desenvolver e aperfeiçoar estratégias de operação, bem como o desempenho dos reatores biológicos.

Segundo Lee, (1995); Khleifat, (2006); Peressutti et al., (2008); Okada et al., (2013b) para se obter a degradação anaeróbia completa do LAS é necessário consórcio microbiano, para favorecer as relações de protocooperação entre as diferentes populações. Goudar; Strevett; Grego, (1999) também afirmaram que a degradação de tensoativos aniônicos foi mais rápida quando foram utilizadas culturas mistas, em relação aquelas com culturas puras.

A caracterização da microbiota de reatores usados para degradar compostos recalcitrantes tem sido feita por meio da aplicação de técnicas de Biologia molecular (DELFORNO et al., 2014; GOMES et al., 2014). Alguns pesquisadores como Braga et al., (2015) e Okada et al., (2014) usaram o pirosequenciamento para identificação filogenética do gene RNAr 16S de amostras do biofilme da areia e grânulos, respectivamente. Okada et al., (2014) identificaram em reator UASB alimentado com água residuária de lavanderia em substrato sintético 34 gêneros relacionados com a degradação do LAS e 30 outros relacionados com a degradação de compostos aromáticos.

Bactérias pertencentes aos filos Proteobacteria, Firmicutes, Synergistetes, Verrucomicrobia e Chloroflexi foram identificadas em reator EGSB (DELFORNO et al., 2014). Além disso, os autores identificaram bactérias semelhantes à *Syntrophorhabdus* e *Desulfobulbus*, provavelmente, relacionados à degradação de compostos aromáticos e redução de sulfato, respectivamente. Os autores alimentaram o reator com água residuária de lavanderia, com 13,2 mg L<sup>-1</sup> e 11,2 mg L<sup>-1</sup> de LAS afluente na fase I e fase II e verificaram que a diferença insignificante na remoção de LAS nas duas fases (78% na fase I e 77% na fase II) foi provavelmente devido à riqueza da comunidade microbiana do inóculo. Ainda, observaram também que modificações na composição da alimentação do reator EGSB alterou a comunidade microbiana. Por exemplo, para baixa concentração de enxofre verificaram seleção da comunidade microbiana com diminuição da diversidade dos microrganismos relacionados com a redução de sulfato. Com a tecnologia de Ion Torrent PGM para caracterização filogenética a partir do gene RNAr 16S de sequenciamento em massa de amostras de grânulos do reator EGSB, alimentado com água residuária de lavanderia

contendo LAS, foram identificados 175 gêneros, sendo 33 destes relacionados à degradação do LAS e/ou compostos aromáticos (DELFORNO et al., 2015).

Okada et al., (2014) identificaram bactérias semelhantes a *Geobacter* em reator UASB, as quais foram relacionadas diretamente com a degradação de LAS e/ou seus intermediários. De acordo com Brenner et al., (2005), *Geobacter* é um gênero anaeróbio estrito e tem a capacidade metabólica para executar a  $\beta$ -oxidação, uma etapa da degradação do LAS, além de utilizar compostos aromáticos, tais como benzeno e tolueno, como fonte de carbono.

Os autores mencionados anteriormente identificaram também outros gêneros relacionados com a dessulfonação, tais como *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Achromobacter*, *Comamonas*, *Desulfovibrio*, *Hydrogenophaga* e *Pseudomonas* (OKADA et al., 2014; DELFORNO et al., 2015).

Outros gêneros identificados foram relacionados com a  $\beta$ -oxidação, tais como *Azoarcus*, *Magnetospirillum*, *Parvibaculum*, *Pseudomonas*, *Rhodopseudomonas*, *Synergistes* e *Syntrophomona*. *Pseudomonas* e *Parvibaculum* também são relacionadas com a capacidade de realizar  $\omega$ -oxidação e, somente, *Pseudomonas* tem a capacidade de realizar  $\beta$  e  $\omega$ -oxidação além da dessulfonação (BRENNER et al., 2005), tendo assim um papel importante no consórcio microbiano de degradação de LAS.

Outros gêneros também identificados como a *Desulfobulbus*, *Desulfomonile*, *Geothrix*, *Holophaga*, *Mycobacterium*, *Rhodopseudomonas*, *Sporomusa*, *Stenotrophomonas*, *Sulfuritalea*, *Syntrophorhabdus* e *Nitrosomonas* foram relacionados com a degradação anaeróbia de compostos aromáticos (QIU et al., 2008b; GILBRIDE; FULTHORPE, 2004; VOS et al., 2009; BRENNER et al., 2005; KRIEG et al., 2010). Representantes semelhantes a *Sulfuritalea* são favorecidos na presença de enxofre e compostos aromáticos, utilizam ácidos orgânicos e compostos aromáticos, tais como benzoato de metila, em suas rotas metabólicas e crescem pela oxidação de compostos reduzidos de enxofre e hidrogênio (KOJIMA e FUKUI, 2011).

Segundo Okada et al., (2013b), o co-substrato pode influenciar na comunidade microbiana dos reatores usados na remoção e degradação de LAS. Os autores verificaram por meio do método do Número Mais Provável (NMP) que a porcentagem de microrganismos pertencentes ao Domínio Bacteria e Archaea (63 e 37%, respectivamente) aumentou quando o extrato de levedura, metanol e etanol, foram adicionados na alimentação do reator UASB

como co-substratos. Os autores aplicaram de 5 a 45 mg L<sup>-1</sup> de LAS afluyente com apenas metanol e etanol como co-substratos na alimentação do reator, e obtiveram remoção de LAS de 30 - 41%. No final, quando adicionaram extrato de levedura, a remoção de LAS aumentou para 50%.

Braga et al., (2015) identificaram bactérias pertencentes ao filo Proteobacteria, Bacteroidetes e Gemmatimonadetes em reator de leito fluidificado. O reator foi operado em duas fases, na fase I a alimentação do reator foi de 23,6 mg L<sup>-1</sup> de LAS e com adição de sacarose como co-substrato, na fase II a alimentação foi de 28 mg L<sup>-1</sup> de LAS sem sacarose como co-substrato, para TDH de 18 e 23 h, respectivamente. Os autores perceberam que a retirada da sacarose como co-substrato da alimentação do reator teve efeito sobre a estrutura microbiana, devido à redução de nutrientes necessários para a manutenção da atividade dos microrganismos e conseqüentemente não favorecendo a remoção do surfactante LAS. Na primeira e segunda fase de operação, a remoção de LAS foi de 58% e 39%, respectivamente, com redução de 15,5% da produção de ácidos orgânicos voláteis (70 mg L<sup>-1</sup> na primeira fase e 59 mg L<sup>-1</sup> na segunda).

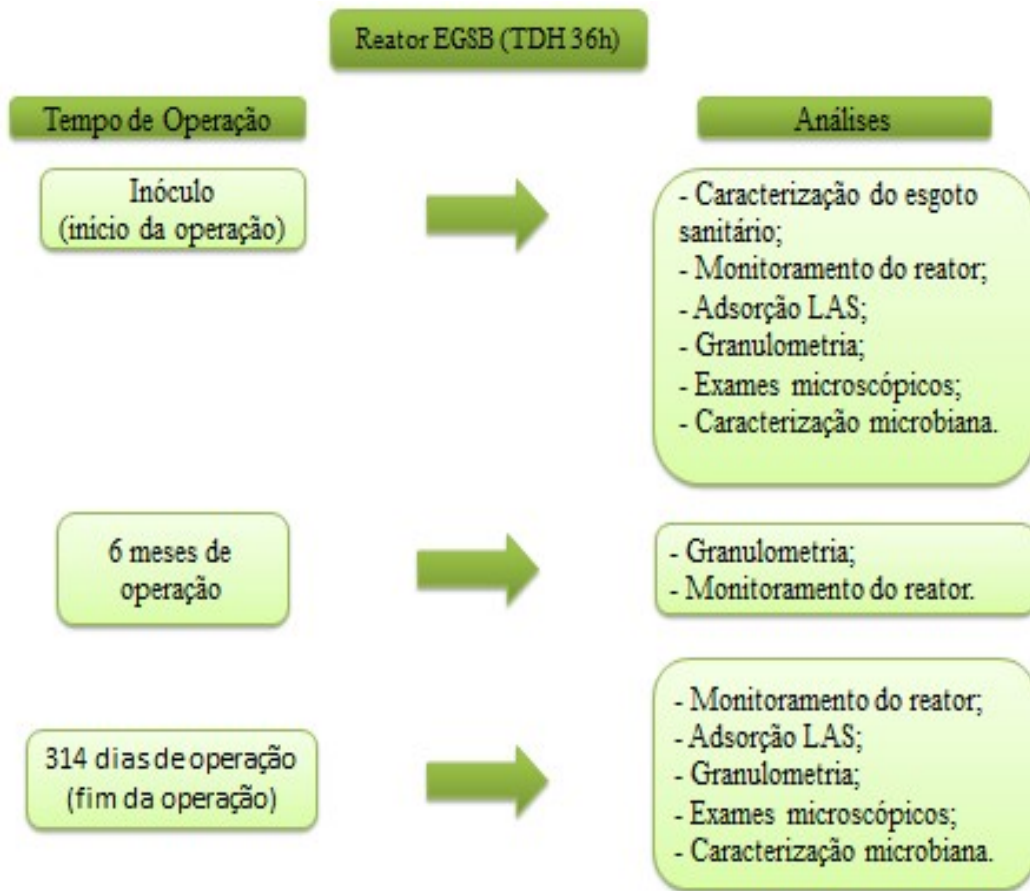
Desse modo, ressalta-se que variedade de microrganismos tem sido observada em diferentes configurações de reatores envolvendo a degradação do LAS. Além disso, as características da água residuária, como concentração de nutrientes, pode ter forte influência sobre a dinâmica das populações de microrganismos (IBARBALZ; FIGUEROLA; ERIJMAN, 2013).

## 4. Material e Métodos

### 4.1. Etapas de Operação e Estrutura dos Experimentos

A finalidade deste trabalho foi avaliar a eficiência de remoção do alquilbenzeno linear sulfonado e da matéria orgânica em reator EGSB, assim como a produção de ácidos orgânicos voláteis, adsorção do LAS no lodo granulado e determinação do diâmetro médio dos grânulos do inóculo e da biomassa do reator EGSB em TDH de 36 horas. As etapas experimentais e análises do trabalho estão detalhadas na Figura 4.1.

Figura 4.1 – Fluxograma Experimental.

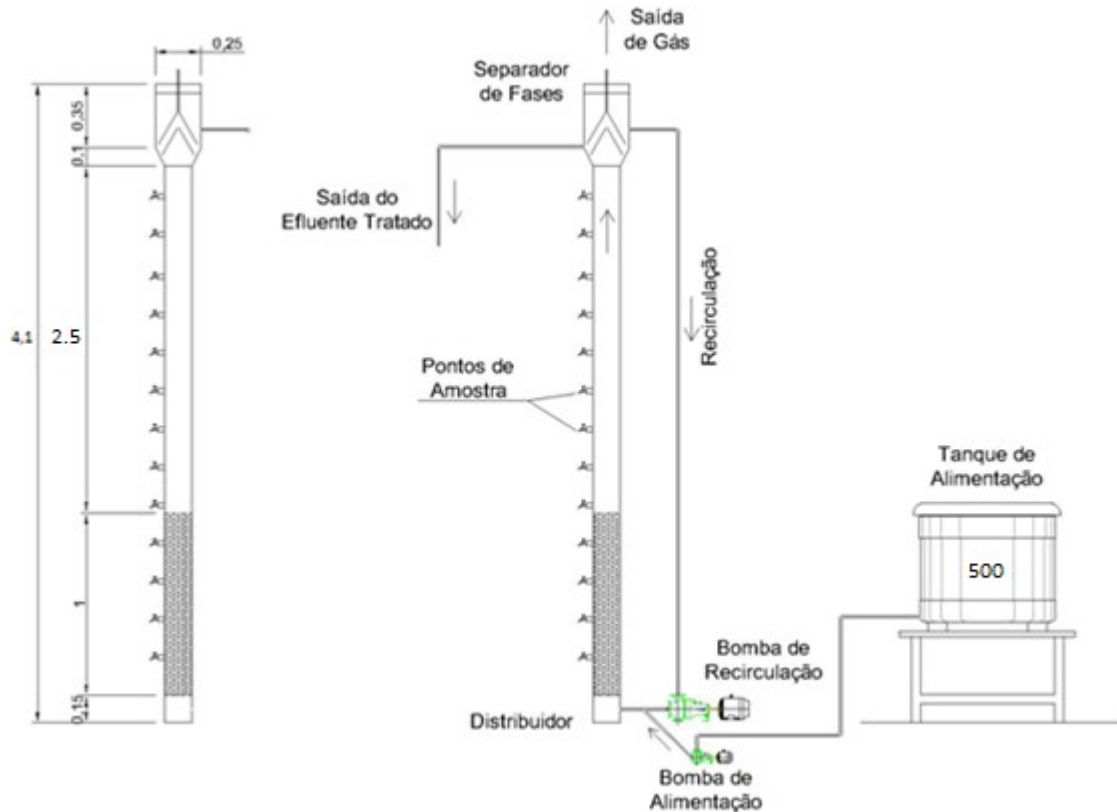


Fonte: Autor.

#### 4.2. Descrição do Reator

O reator EGSB (Figura 4.2) foi construído uma parte em PVC (3,1 m) e outra em acrílico (1 m) para poder visualizar o lodo e monitorar sua expansão, com as seguintes dimensões: 0,069 m<sup>3</sup> de volume, 4,1 m de altura, 15 cm de diâmetro e área de seção de aproximadamente 0,018 m<sup>2</sup>. Ao longo de toda sua extensão foram instalados 12 pontos de amostragem (Figura 4.3).

Figura 4.2 - Esquema do Reator EGSB (medidas em metro e litro).



Fonte: Autor.

Uma caixa de 500L foi utilizada para armazenar o esgoto da alimentação do reator. O esgoto foi captado pós-tratamento preliminar (gradeamento grosso, gradeamento fino e desarenação) da Estação de Tratamento de Esgoto de São Carlos – SP por meio de uma bomba centrífuga. As bombas usadas para recirculação e alimentação do reator foram bombas de diafragma.

Figura 4.3 - Reator EGSB em Escala Piloto Utilizado no Presente Estudo: (1) Pontos de Amostragem (12 Pontos), (2) Parte em PVC (3,1 m), (3) Parte em Acrílico (1 m), (4) Lodo Adensado, (5) Bomba de Recirculação (Diafragma) e (6) Bomba de Alimentação (Diafragma).



Fonte: Autor.

Na Tabela 4.1 estão apresentados os parâmetros de operação intrínsecos do reator. Durante toda a operação do reator foi mantido o TDH de  $35,79 \pm 3,42$  horas, sendo medida e ajustada a vazão todos os dias. A vazão de recirculação (aproximadamente  $55 \text{ L h}^{-1}$ ) foi constante durante todo o período de operação, promovendo a expansão do leito e a diluição da alimentação e, por conseguinte, também a diluição dos compostos tóxicos, como o LAS por exemplo.

Tabela 4.1 - Parâmetros de Operação do Reator EGSB.

TDH (h)	Volume do Reator (L)	Vazão de Recirculação (L h <sup>-1</sup> )	Vazão de Alimentação (L h <sup>-1</sup> )
35,79 ± 3,42	69	55	1,94 ± 0,19

### 4.3. Inóculo

O reator foi inoculado (Figura 4.4) com 12L de lodo granular proveniente de reator UASB do tratamento de água residuária da Avícola Céu Azul Alimentos da cidade de Pereira – SP com 32,52 g L<sup>-1</sup> de sólidos totais, 3,67 g L<sup>-1</sup> de sólidos totais fixos e 28,75 g.L<sup>-1</sup> de sólidos totais voláteis (Tabela 4.2). Tais sólidos foram analisados de acordo com a metodologia descrita em *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (APHA et al., 2005).

Figura 4.4 - Reator EGSB Logo Após a Inoculação: (1) Lodo e (2) Grânulos do lodo Adensando.



Fonte: Autor.



Tabela 4.2 - Sólidos Totais, fixos e voláteis do lodo de inóculo.

Sólidos Totais (g L <sup>-1</sup> )	Sólidos Totais Fixos (g L <sup>-1</sup> )	Sólidos Totais Voláteis (g L <sup>-1</sup> )
32,52	3,67	28,75

#### 4.4. Alimentação

Durante toda a operação, o reator EGSB foi alimentado com esgoto sanitário oriundo da Estação de Tratamento de Esgoto de São Carlos – SP (SAAE – Serviço Autônomo de Água e Esgoto).

#### 4.5. Caracterização do Esgoto Sanitário

Previamente, foram realizadas análises em Cromatografia Gasosa com Detector de Massa Acoplado (GC/MS), de 2 em 2 horas (das 8 horas da manhã às 8 horas da noite), do esgoto sanitário da ETE de São Carlos – SP, para melhor definir em qual horário o esgoto sanitário apresentava maior concentração de LAS e assim determinar o período de amostragem e alimentação do reator EGSB. Todas as amostras foram coletadas logo após o tratamento preliminar (remoção de materiais grosseiros, flutuantes e sedimentáveis).

Após a identificação do melhor horário, às 12 horas, foram coletadas amostras para caracterização analítica, durante 31 dias, quanto à concentração de LAS, alcalinidade, pH (potencial hidrogeniônico), demanda química de oxigênio (DQO), ácidos orgânicos voláteis (ácido acético, butírico, capróico, cítrico, fórmico, isobutírico, isovalérico, láctico, málico, propiônico, succínico e valérico), metais pesados (cádmio, chumbo, cobre, cromo total, ferro, manganês, níquel e zinco), série nitrogenada (nitrato, nitrito e NTK), fosfatos, sólidos dissolvidos, suspensos e totais, sulfato e sulfeto (Tabela 4.3).

Duas amostras, contendo as maiores concentrações de LAS (11,54 mg L<sup>-1</sup> e 10,57 mg L<sup>-1</sup>) dos 30 dias de caracterização, foram selecionadas e enviadas para análise em *Gas Chromatography – Mass Spectrometry* (CG/MS) na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas (SP) para caracterização analítica de outros compostos recalcitrantes. Para análise por *Headspace – GC/MS* a amostra foi aquecida a 80°C por 5 minutos e os vapores gerados foram analisados por GC-MS, para análise por injeção direta-GC/MS efetuou-se uma extração líquido-líquido da amostra com diclorometano. O extrato

obtido foi concentrado e analisado por GC-MS. Ambas análises foram efetuadas nas seguintes condições:

**Amostra:** Volume injetado: 1,0  $\mu\text{L}$  (líquido) e 300  $\mu\text{L}$  (gás).

**Coluna:** HP-5MS, 5% difenil, 95% dimetil polisiloxano (30 m x 0,25 mm; 0,25  $\mu\text{m}$ ).

**Gás de arraste:** He (99,99999); 1,0  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ .

**Injetor:** 280°C, modo Split (1:10).

**Forno:** 70°C (2 min)  $\rightarrow$  230°C (20°C  $\text{min}^{-1}$ ); 230 °C (50 min). Tempo total de corrida = 60 min.

**Detector:** Espectrômetro de massas tipo quadruplo linear. Fonte de ionização: Impacto de elétrons (70 eV). Modo de varredura (0,5 seg  $\text{scan}^{-1}$ ). Faixa de massas: 45-550 daltons (uma). Linha de transferência: 280 °C.

**Equipamento:** 5975C Agilent.

Para a identificação dos compostos detectados nos cromatogramas, foram utilizadas a base de dados de espectros de massas NIST11 e o programa AMDIS (*Automated Mass Spectral Deconvolution mass & Identification Sytem*).

Tabela 4.3 – Parâmetros de Caracterização do Esgoto Sanitário.

<b>Parâmetro</b>	<b>Método</b>	<b>Referência Bibliográfica</b>
Ácidos orgânicos voláteis	CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência	PENTEADO et al., (2013)
Alcalinidade	Titulométrico	Ripley et al., (1986)
DQO bruta e filtrada	Espectrofotométrico	APHA (2005)
Fosfato	Espectrofotométrico	APHA (2005)
LAS	CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência	DUARTE et al., (2006)
Metais potencialmente tóxicos	Absorção Atômica	APHA (2005)
Nitrato	Espectrofotométrico	ROBISON & HSU (1969); APHA (2005)
Nitrito	Espectrofotométrico	APHA (2005)
Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK)	Titulométrico	APHA (2005)
pH	Potenciométrico	APHA (2005)
Sólidos dissolvidos, suspensos e totais	Gravimétrico	APHA (2005)
Sulfato	Turbidimétrico	APHA (2005)
Sulfeto	Espectrofotométrico	APHA (2005)

#### **4.6. Monitoramento do Reator EGSB: Análises Físico-Químicas e Cromatográficas**

Foram realizadas análises de monitoramento temporal (Tabela 4.4) do afluente e efluente do reator EGSB. As análises de DQO, pH, sólidos totais voláteis, sulfato e sulfeto foram realizadas de acordo com APHA (2005). A determinação da alcalinidade foi realizada pela metodologia descrita por Ripley (1986) e modificada por Dillalo e Albertson (1961). Os ácidos orgânicos voláteis foram determinados 1 vez ao mês por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), por meio da metodologia de Penteado et al., (2013). Tal metodologia permite a determinação dos seguintes ácidos: Acético, Butírico, Capróico, Cítrico, Fórmico, Isobutírico, Isovalérico, Láctico, Málico, Propiônico, Succínico e Valérico.

A determinação do LAS foi feita por meio da metodologia desenvolvida por Duarte et al., (2006) utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). O detector utilizado foi o de fluorescência e a fase estacionária utilizada foi a coluna C8 (Supelco), com 5  $\mu\text{m}$  de porosidade, 15 cm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro. Como fase móvel foi empregado metanol puro e perclorato de sódio (0,075M), com fluxo de 0,5  $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$  e temperatura 35°C.

Tabela 4.4 - Análises de Monitoramento do Reator EGSB.

<b>Parâmetro</b>	<b>Método</b>	<b>Periodicidade</b>	<b>Referência Bibliográfica</b>
<b>Ácidos Orgânicos Voláteis (<math>\text{mg L}^{-1}</math>)</b>	CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência	1 vez por mês	PENTEADO et al., (2013)
<b>Alcalinidade (<math>\text{mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}</math>)</b>	Titulométrico	2 vezes por semana	Ripley et al., (1986)
<b>DQO bruta e filtrada (<math>\text{mg L}^{-1}</math>)</b>	Espectrofotométrico	2 vezes por semana	APHA (2005)
<b>LAS (<math>\text{mg L}^{-1}</math>)</b>	CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência	2 vezes por semana	DUARTE et al., (2006)
<b>pH (unidade)</b>	Potenciométrico	2 vezes por semana	APHA (2005)
<b>Sólidos dissolvidos, suspensos e totais</b>	Gravimétrico	1 vez por semana	APHA (2005)
<b>Sulfato (<math>\text{mg L}^{-1}</math>)</b>	Turbidimétrico	2 vezes por semana	APHA (2005)
<b>Sulfeto (<math>\text{mg L}^{-1}</math>)</b>	Espectrofotométrico	2 vezes por semana	APHA (2005)
<b>Vazão (<math>\text{mL h}^{-1}</math>)</b>	Volumétrico	Diariamente	-
<b>Expansão do Leito</b>	-	2 vezes por semana	-

#### 4.7. Monitoramento da Expansão do Leito do Reator EGSB

Foi realizado o monitoramento de expansão do leito utilizando-se uma régua para medir a altura. Inicialmente, com bomba de recirculação desligada (Figura 4.5), foi medida a altura e, em seguida, com a bomba de recirculação ligada, foi medida a altura do leito. Segundo Campos (1999) a altura da expansão do leito não pode ultrapassar 30% da altura inicial. Para o cálculo da altura de expansão, foi usada a equação:

$$\% \text{ Expansão} = \left( \frac{H_1}{H_0} \times 100 \right) - 100$$

Sendo,

$H_0$  = Altura da bomba de recirculação desligada;

$H_1$  = Altura do leito com a bomba de recirculação ligada.

Figura 4.5 - Grânulos do Reator EGSB Adensados para Medir o  $H_0$ .



Fonte: Autor.

#### 4.8. Adsorção de LAS

A extração do LAS adsorvido no lodo granular foi realizada de acordo com a metodologia modificada de (DUARTE et al., 2006), tanto para o inóculo proveniente do tratamento de efluentes da Avícola Céu Azul Alimentos da cidade de Pereira – SP, como também para os grânulos do reator EGSB ao final da etapa operacional.

#### 4.9. Granulometria

A dimensão dos grânulos, do lodo de inóculo e do lodo do reator EGSB ao final da operação, foi determinada pela metodologia de Alves et al., (2016). Para tanto, foram misturados 10 mL de amostra dos grânulos em 1000 mL de água e esperou-se a sedimentação dos grânulos para descarte do sobrenadante. Este processo foi repetido 3 vezes. Em seguida, os grânulos foram depositados em placas de Petri e separados uns dos outros. A captura das imagens das placas de Petri foi obtida por meio de *scanner HP* (modelo *Scanjet 3770*), e o *software* utilizado para análise das imagens foi o *Image-Pro Plus* (Versão 6.0).

#### 4.10. Balanço de Massa do LAS

Para o balanço de massa afluyente e efluente, que se refere a massa de LAS que entrou no reator e a massa de LAS que foi recuperada no efluente, foi utilizado a seguinte fórmula:

$$\text{Massa de LAS}_{(\text{Afl/Efl})} = [\text{LAS}] \times Q \times T$$

Massa de LAS<sub>(Afl/Efl)</sub> = massa de LAS acumulada afluyente/efluente

[LAS] = concentração de LAS afluyente/efluente (mg L<sup>-1</sup>)

Q = vazão afluyente/efluente (L h<sup>-1</sup>)

T = tempo de operação (h)

Para o cálculo da massa que entrou no sistema e ficou adsorvida na biomassa granulada, foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\text{LAS}_{\text{adsEGSB}} = \alpha \times \beta \times V$$

LAS<sub>adsEGSB</sub> = massa de LAS adsorvida nos grânulos do reator EGSB

$\alpha$  = média da concentração de LAS extraído dos grânulos do reator EGSB (mg.gST<sup>-1</sup>)

$\beta$  = sólidos totais do lodo do reator EGSB (g.L<sup>-1</sup>)

V = volume do reator EGSB (L)

#### 4.11. Exames Microscópicos

Foram realizados exames microscópicos de contraste de fase em microscópio Olympus BX60 com câmera acoplada para captura de imagem e *software Image-Pro Plus*

4.5 em amostras do lodo de inóculo e do lodo granulado do reator EGSB ao final da operação. As amostras foram colocadas em frasco de antibiótico de 30 mL juntamente com pérolas de vidro, para posterior homogeneização da amostra e total ruptura dos grânulos. Uma gota de cada amostra foi adicionada em lâminas previamente limpas com detergente e álcool, e colocado sobre cada gota uma lamínula também previamente lavada. Após este procedimento, foi feita a leitura no microscópio.

#### **4.12. Caracterização Microbiana**

Para análise filogenética da diversidade microbiana do reator EGSB foi utilizado o sequenciamento do gene RNAr 16S por meio da plataforma *Illumina MiSeq*. Segundo a literatura, apenas microrganismos pertencentes ao Domínio *Bacteria* e *Archaea* estão relacionados a remoção do LAS, portanto foram utilizados *primers* específicos somente para estes Domínios.

##### **4.12.1. Extração de DNA**

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

##### **4.12.2. Sequenciamento do Gene RNAr 16S**

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

As sequências foram filtradas para a remoção do adaptador, *barcodes*, *primers* e sequências menores que 200 bps ou contendo ‘N’ ambíguo (*Software Seqyclean*). O pré-processamento das sequências foi realizado no *Software CASAVA 1.8.2.*, com valor mínimo adotado para Q (*phred*) de 24 (*Phred Quality*).

O alinhamento das sequências foi realizado de acordo com *Pynast* (CAPORASO et al., 2011), e as Unidades Taxinômicas Operacionais (OTU), foram determinadas por meio do “agrupamento hierárquico”, com similaridade de 97%. As *Singletons* (OTU com apenas uma sequência) foram removidas, pois podem representar erros de sequenciamento (DICKIE, 2010).

A classificação taxonômica das sequências representativas de cada OTU foi feita através do *RDP-Classifer* e os limites confiáveis foram de 80% para gênero e 50% para outros níveis taxonômicos (Filo ou Família). As diversidades Alfa (Chao1, Shannon, Simpson e Domínio) e Beta (índice de dissimilaridade Bray-Curtis) foram quantificadas utilizando o *software Past* (HAMMER; HARPER; RYAN, 2009), por meio da normalização da base de dados utilizando o *script* QIIME (CAPORASO et al., 2011).

## 5. Resultados e Discussão

### 5.1. Caracterização do Esgoto Sanitário

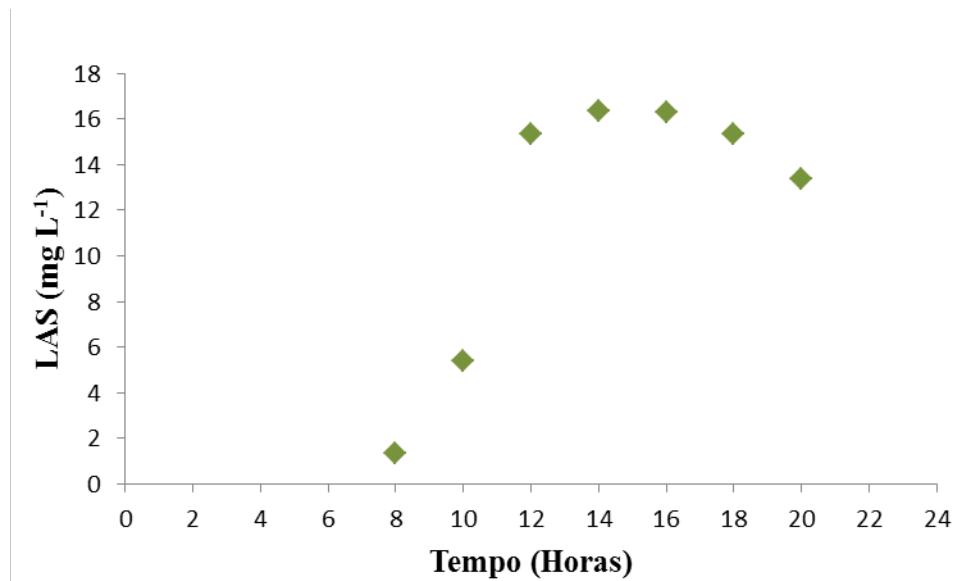
A partir da caracterização físico-química do esgoto sanitário do município de São Carlos-SP, verificou-se no período das 8h às 20h que a menor concentração de LAS (1,32 mg L<sup>-1</sup>) foi às 8h e a maior concentração de LAS (16,4 mg L<sup>-1</sup>) foi às 16h (Tabela 5.1 e Figura 5.1).

Tabela 5.1 – Concentração do LAS em Esgoto Sanitário do Município de São Carlos-SP em 12 Horas.

Horário	8:00	10:00	12:00	14:00	16:00	18:00	20:00
LAS (mg L <sup>-1</sup> )	1,30	5,40	15,30	16,40	16,30	15,30	13,40



Figura 5.1 - Variação Temporal de LAS em 12 Horas de Caracterização do Esgoto Sanitário.



Fonte: Autor.

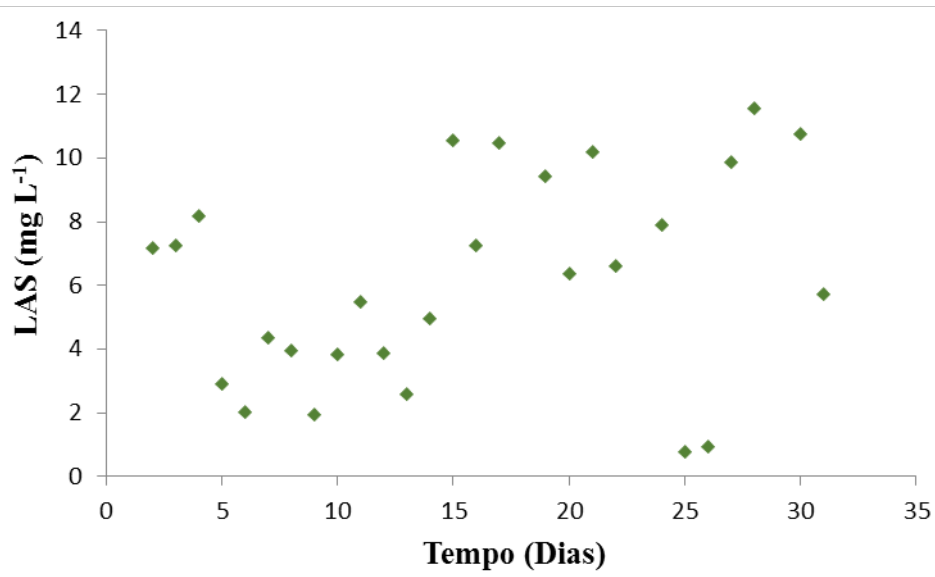
Verificou-se maior concentração LAS afluente no esgoto sanitário à partir das 12 horas, portanto definiu-se que a coleta para caracterização do esgoto sanitário seria à partir deste horário. Durante 31 dias foram feitas coletas neste horário e subsequente análises de LAS, alcalinidade, pH, DQO, ácidos orgânicos voláteis, série nitrogenada (nitrato, nitrito e NTK), fosfatos, sólidos dissolvidos, suspensos e totais, sulfato e sulfeto.

As concentrações mínima, máxima e média de LAS obtidas foram de 0,94 mg L<sup>-1</sup>, 11,54 mg L<sup>-1</sup> e 6,19 ± 3,25 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente (Tabela 5.2, Figura 5.2 e Figura 5.3). Mungray; Kumar, (2009) observaram entre 1 a 18 mg L<sup>-1</sup> de LAS em esgoto sanitário, enquanto Morita e Santana, (2005) constataram 14 ± 5,6 mgLAS L<sup>-1</sup> no esgoto sanitário da Estação de Tratamento de Esgoto de Barueri, São Paulo (Brasil).

Tabela 5.2 – Caracterização do LAS em Esgoto Sanitário do Município de São Carlos – SP durante 31 Dias.

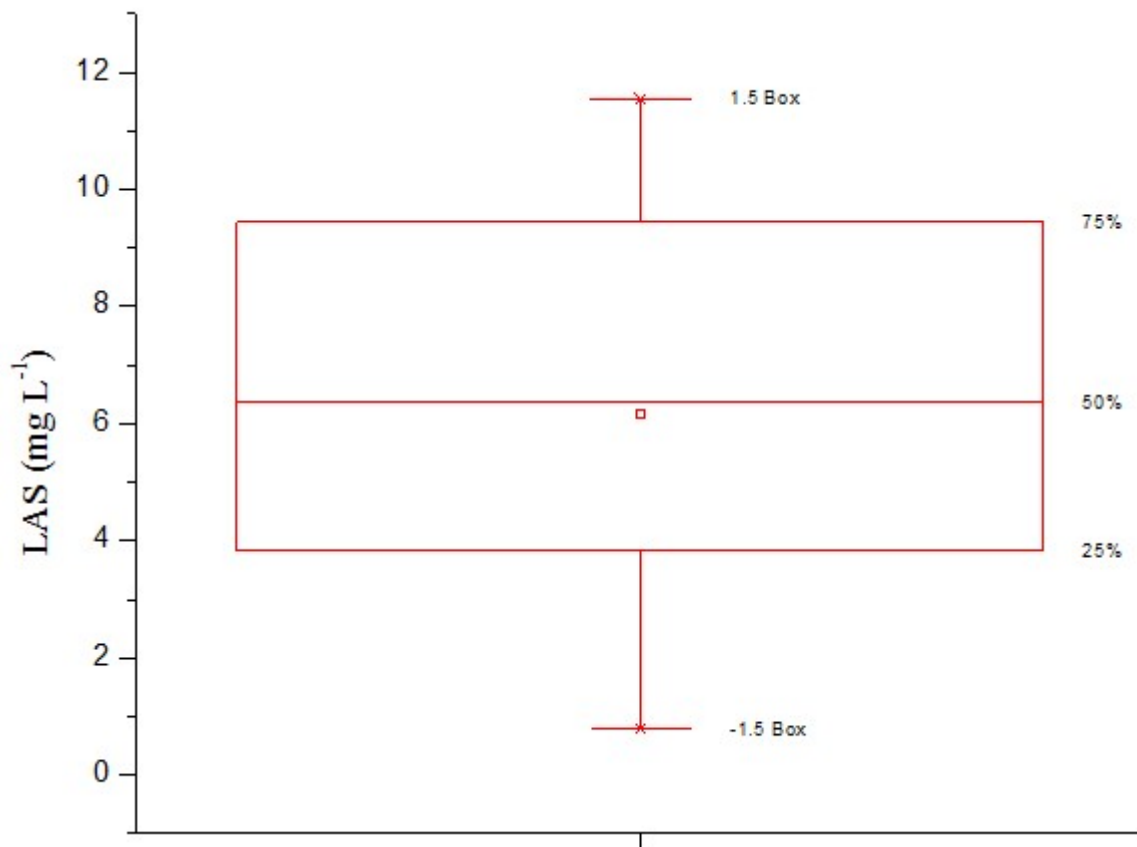
	<b>Mínima</b>	<b>Máxima</b>	<b>Média</b>
<b>LAS (mg L<sup>-1</sup>)</b>	0,94	11,54	6,189 ± 3,25

Figura 5.2 - Variação Temporal de LAS em 31 Dias de Caracterização do Esgoto Sanitário.



Fonte: Autor.

Figura 5.3 – Box Plot das Concentrações de LAS em 31 Dias de Caracterização do Esgoto Sanitário.



Fonte: Autor.

Para a DQO bruta foi observado concentração mínima, máxima e média de 386,60 mgL<sup>-1</sup>, 1.018,5 mg L<sup>-1</sup> e 653,50 ± 169,30 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente (Tabela 5.3, Figura 5.4 e Figura 5.5). Já para a DQO filtrada (Tabela 5.3, Figura 5.6 e Figura 5.7), a concentração mínima, máxima e média observadas foram de 206,60 mg L<sup>-1</sup>, 486,40 mg L<sup>-1</sup> e 298,30 ± 57,60 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente, para os 31 dias de caracterização.

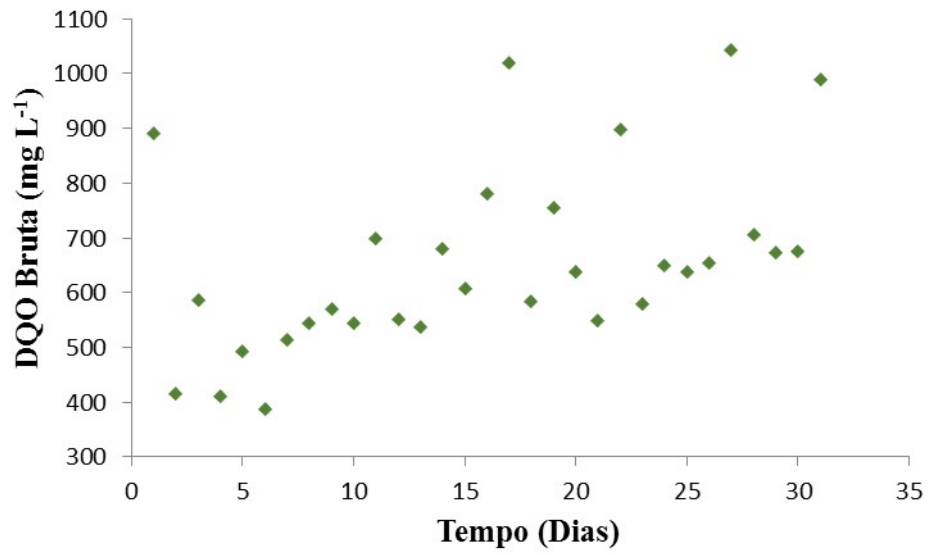
Esgotos domésticos são compostos por aproximadamente 99,9% de água e os outros 0,1% são sólidos orgânicos e inorgânicos, suspensos e dissolvidos, bem como microrganismos (VON SPERLING, 2005). A matéria orgânica presente nos esgotos é composta por proteínas, carboidratos, gorduras e óleos, uréia, surfactantes, fenóis, pesticidas e outros (PESSOA & JORDÃO, 1982).

A concentração de DQO bruta típica de esgoto doméstico é de aproximadamente 700 mg.L<sup>-1</sup> (VON SPERLING, 2005). Segundo Moura, (2014) a DQO bruta do esgoto sanitário que abastece o Laboratório de Processos Biológicos da Escola de Engenharia de São Carlos é de 493 ± 154 mg L<sup>-1</sup>. Tais concentrações são próximas a DQO bruta no esgoto sanitário afluente a ETE de São Carlos - SP (653,50 ± 169,30 mg L<sup>-1</sup>).

Tabela 5.3 – Caracterização da DQO Bruta e Filtrada do Esgoto Sanitário do Município de São Carlos – SP durante 31 Dias.

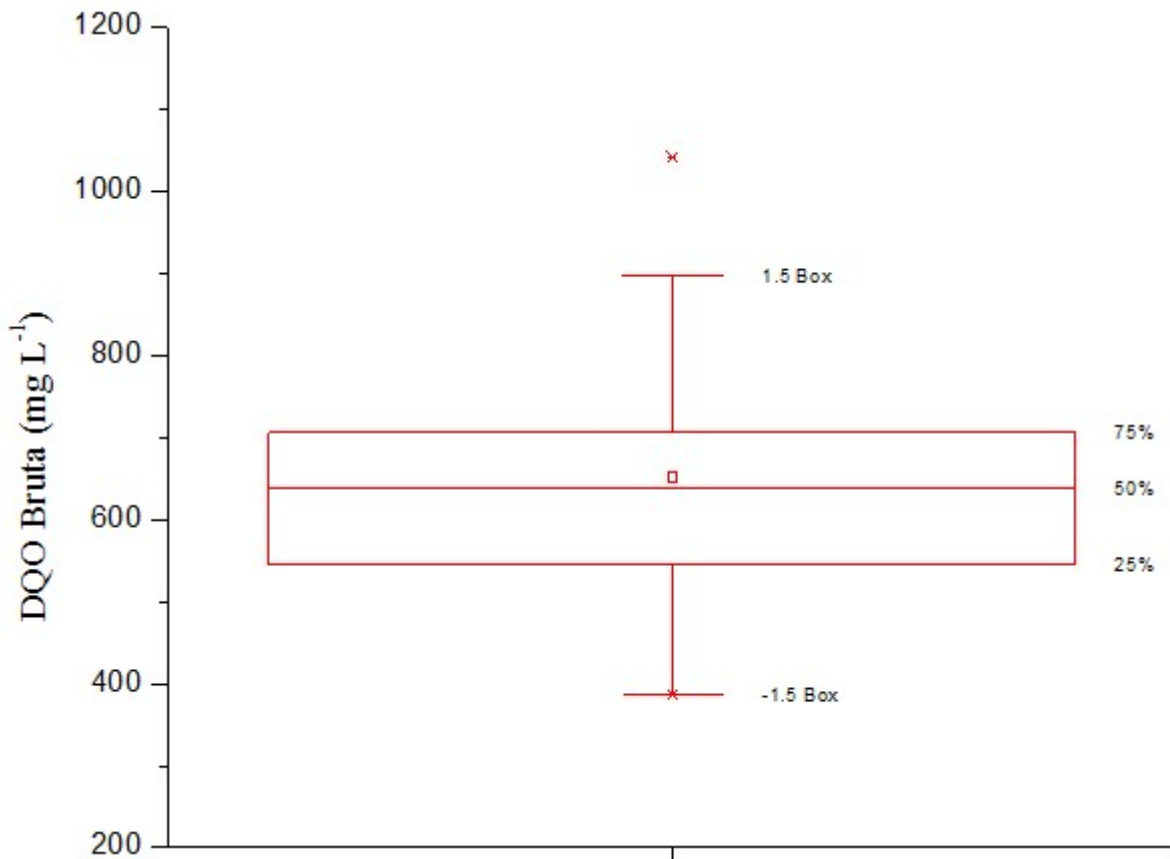
	<b>Mínima</b>	<b>Máxima</b>	<b>Média</b>
<b>DQO<sub>Bruta</sub> (mg L<sup>-1</sup>)</b>	386,60	1.018,5	653,50 ± 169,30
<b>DQO<sub>Filtrada</sub> (mg L<sup>-1</sup>)</b>	206,60	486,40	298,30 ± 57,60

Figura 5.4 - Variação Temporal da DQO Bruta em 31 Dias de Caracterização do Esgoto Sanitário.



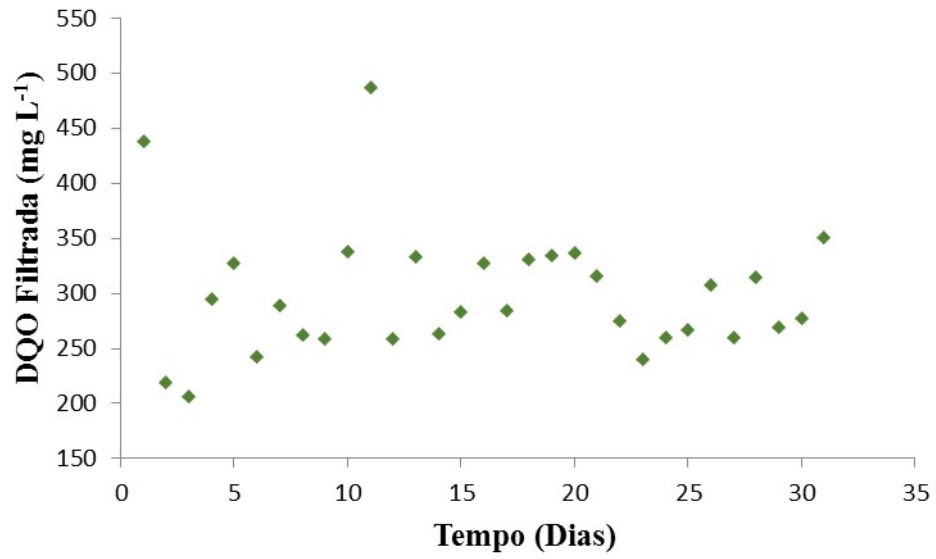
Fonte: Autor.

Figura 5.5 - Box Plot das Concentrações de DQO Bruta em 31 Dias de Caracterização do Esgoto Sanitário.



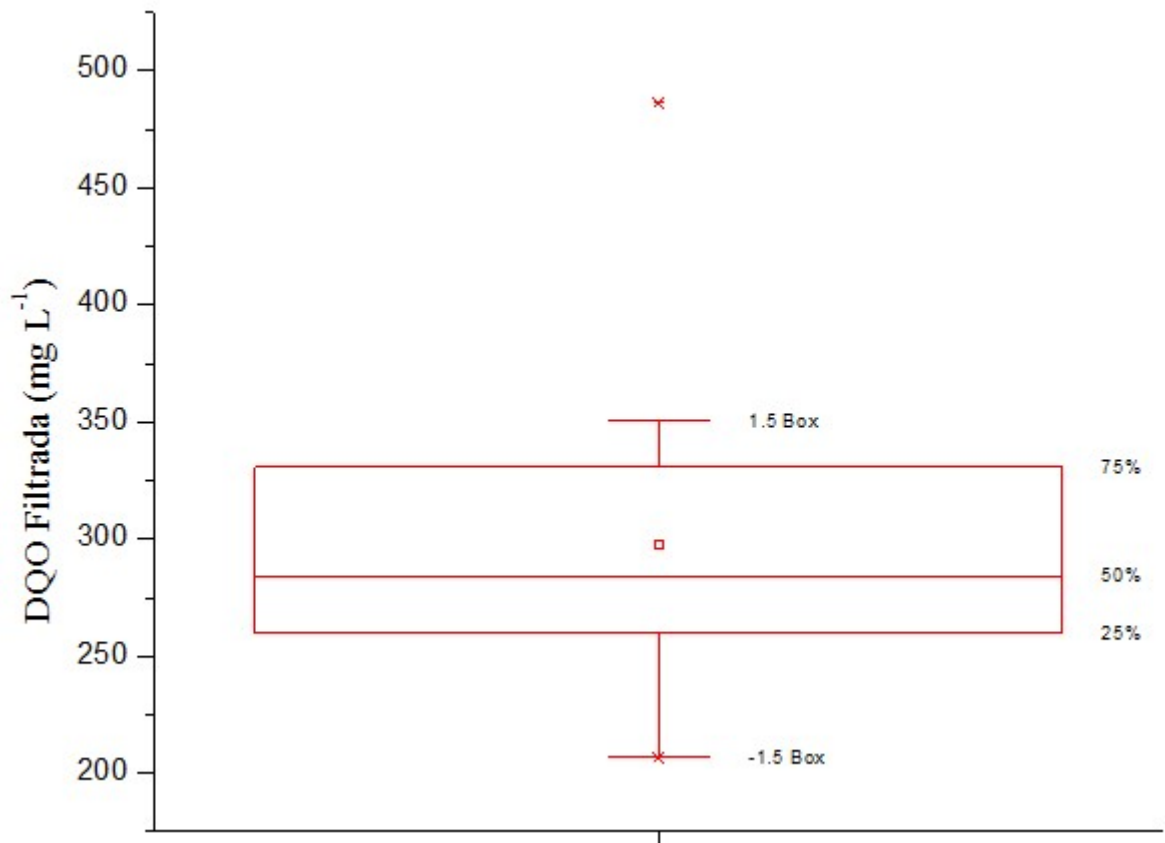
Fonte: Autor.

Figura 5.6 - Variação Temporal da DQO Filtrada em 31 Dias de Caracterização do Esgoto Sanitário.



Fonte: Autor.

Figura 5.7 - Box Plot das Concentrações de DQO Filtrada em 31 Dias de Caracterização do Esgoto Sanitário.



Fonte: Autor.

O maior valor de pH observado foi de 7,50 e o menor valor foi de 6,90, com média total de  $7,20 \pm 0,13$ , mantendo-se sempre na faixa de pH neutro. Tais valores de pH observados foram, provavelmente, devido a correção do pH feita no tratamento preliminar do esgoto sanitário afluente à ETE de São Carlos-SP. A média da alcalinidade parcial e total foram de  $133,20 \pm 19,0 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  e  $215,82 \pm 21,58 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  respectivamente, conferindo boa capacidade de tamponamento do esgoto sanitário, o que consequentemente auxilia na estabilidade dos reatores anaeróbios. O pH do esgoto sanitário do município de São Carlos-SP está de acordo com as condições e padrões de lançamento de efluentes da Resolução CONAMA nº 430, de 13 de maio de 2011 (Brasil, 2011) (Tabela 5.4).

Tabela 5.4 – Valores de pH, Alcalinidade Parcial e Total do Esgoto Sanitário de São Carlos - SP.

	Mínimo	Máximo	Média	CONAMA 430
<b>pH</b>	6,90	7,50	$7,24 \pm 0,13$	Entre 5 e 9
<b>Alcalinidade Parcial (<math>\text{mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}</math>)</b>	89,20	165,60	$133,20 \pm 19,0$	-
<b>Alcalinidade Total (<math>\text{mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}</math>)</b>	139,60	242,00	$215,80 \pm 21,60$	-

Fonte: Brasil, 2011.

Em relação aos ácidos orgânicos voláteis, observou-se apenas o ácido acético e o ácido propiônico. Os demais ácidos (Isobutírico, Butírico, Isovalérico, Valérico e Capriônico) não foram observados no esgoto sanitário. Tais concentrações de ácidos encontrados estão de acordo com seu pH neutro ( $7,24 \pm 0,13$ ) (Tabela 5.5).

Tabela 5.5 – Ácidos Orgânicos Voláteis no Esgoto Sanitário de São Carlos - SP.

	Ác. Acético	Ác. Propiônico
<b>Concentração média total dos ácidos presentes no esgoto sanitário (<math>\text{mg L}^{-1}</math>)</b>	$21,40 \pm 18,90$	$2,10 \pm 3,90$
<b>Concentração média da DQO equivalente no esgoto sanitário (<math>\text{mgDQO L}^{-1}</math>)</b>	$22,20 \pm 20,30$	$3,10 \pm 5,80$

No esgoto sanitário da ETE de São Carlos – SP foram observadas concentrações mínima, máxima e média de sulfato de 60 mg.L<sup>-1</sup>, 78,80 mg.L<sup>-1</sup> e 82,0 ± 56,50 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Para o sulfeto as concentrações mínima, máxima e média foram de 0,36 mg.L<sup>-1</sup>, 2,50 mg.L<sup>-1</sup> e 1,60 ± 0,890 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente (Tabela 5.6). A média da concentração de sulfeto encontrada no esgoto sanitário de São Carlos-SP ultrapassa a concentração máxima permitida para lançamento de efluentes de acordo com o CONAMA, Resolução nº 430 (Brasil, 2011), indicando assim a necessidade do tratamento do esgoto sanitário do município de São Carlos-SP antes de seu descarte no Rio Monjolinho – São Carlos - SP.

Tabela 5.6 – Sulfato e Sulfeto do Esgoto Sanitário de São Carlos - SP.

	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Média</b>	<b>CONAMA 357</b> <b>Valor máximo permitido</b>
<b>Sulfato (mgSO<sub>4</sub> L<sup>-1</sup>)</b>	60,00	78,80	82,00 ± 56,55	-
<b>Sulfeto (mgS L<sup>-1</sup>)</b>	0,36	2,50	1,60 ± 0,89	1,0

Fonte: Brasil, 2011.

Os valores mínimo, máximo e médio encontrados para o nitrito foram de 0,02 mg L<sup>-1</sup>, 0,17 mg L<sup>-1</sup> e 0,062 ± 0,075 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. Em relação ao nitrato, foram observados concentrações mínima, máxima e média de 0,2 mg L<sup>-1</sup>, 7 mg.L<sup>-1</sup> e 1,09 ± 1,27 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. Já para o Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK), os valores mínimo, máximo e médio observados foram de 34,01 mgN-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> L<sup>-1</sup>, 75,10 mgN-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> L<sup>-1</sup> e 44,81 ± 7,83 mgN-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> L<sup>-1</sup>, respectivamente. A partir desses valores, pode-se mencionar que o valor médio observado para nitrogênio amoniacal (NTK) no esgoto sanitário do município de São Carlos - SP extrapolou os limites da Resolução CONAMA 430, indicando assim a necessidade de tratamento do esgoto sanitário para posterior despejo no Rio Monjolinho – São Carlos - SP (Tabela 5.7). Tais resultados estão de acordo com estudo desenvolvido por (REZENDE, 2011), que simulou (através do Modelo Matemático de Qualidade da Água QUAL-2E ) as condições do rio Monjolinho no despejo direto do esgoto sanitário da cidade de São Carlos-SP. De acordo com esse estudo, há a necessidade de tratamento do esgoto sanitário em relação à concentração de nitrogênio amoniacal.

Os valores mínimo, máximo e médio observados de fosfato foram de 1,20 mg L<sup>-1</sup>, 2,70 mg L<sup>-1</sup> e 2,10 ± 0,35 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Tais concentrações de nitrito, nitrato, NTK e fosfato estão próximas as concentrações observadas por Moura, (2014) no esgoto sanitário do Campus 2 da USP de São Carlos – SP, as quais foram  $0,4 \pm 0,8 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $0,5 \pm 1,3 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $45 \pm 13 \text{ mg L}^{-1}$  e  $4,0 \pm 2,1 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente.

Tabela 5.7 – Nitrito, Nitrato e NTK do Esgoto Sanitário de São Carlos - SP e Valores Máximos Permitidos para Água Doce.

Parâmetro	Esgoto sanitário ( $\text{mg L}^{-1}$ )	CONAMA 430 – Água Doce
		Valor máximo permitido ( $\text{mgN L}^{-1}$ )
Nitrito	$0,06 \pm 0,07$	-
Nitrato	$1,90 \pm 1,30$	-
NTK	$44,80 \pm 7,83$	20
Fosfato	$2,10 \pm 0,35$	-

Fonte: Brasil, 2011.

Na série de sólidos observou-se valores mínimo, máximo e médio de sólidos totais (ST) de  $101,33 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $574,67 \text{ mg L}^{-1}$  e  $252,40 \pm 99,90 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente. Para sólidos totais voláteis (STV), observou-se respectivamente  $12 \text{ mg.L}^{-1}$ ,  $221,30 \text{ mg L}^{-1}$  e  $116,70 \pm 73,40 \text{ mg L}^{-1}$ . Em relação aos sólidos totais fixos (STF), observou-se respectivamente  $21,33 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $366,67 \text{ mg L}^{-1}$  e  $135,67 \pm 102,35 \text{ mg L}^{-1}$  (Tabela 5.8).

Tabela 5.8 - Série de Sólidos do Esgoto Sanitário de São Carlos - SP.

	ST	STV	STF
Mínimo ( $\text{mg L}^{-1}$ )	101,33	12	21,33
Máximo ( $\text{mg L}^{-1}$ )	574,67	221,30	366,67
Média total ( $\text{mg L}^{-1}$ )	$252,40 \pm 99,90$	$116,70 \pm 73,40$	$135,67 \pm 102,35$

Os metais analisados foram os seguintes: Cádmiu, Chumbo, Cobre, Cromo total, Ferro, Manganês, Níquel e Zinco (Tabela 5.9). Porém, dentre estes, somente o Cobre e Cromo total não foram detectados. A maior concentração de metais observada foi a de Ferro



(2,24 mg.L<sup>-1</sup>) e a menor para o Cádmio (0,003 mg.L<sup>-1</sup>). Destaca-se que os metais encontram-se distribuídos por toda natureza, podendo ser originários de rochas ou de atividade industrial, e a concentração desses metais é em função da maior ou menor participação do esgoto sanitário e água residuária, podendo chegar a concentrações de pequenos riscos ou potencialmente perigosos aos homens e animais, como o Zinco, Cobre, Níquel, Cádmio e Molibdênio (TSUTIYA, 2002).

Tabela 5.9 – Ferro e Metais Potencialmente Tóxicos no Esgoto Sanitário de São Carlos - SP.

<b>Parâmetro</b>	<b>Amostra 1</b>	<b>Amostra 2</b>	<b>Limite de detecção</b>
<b>Cádmio (mgCd L<sup>-1</sup>)</b>	<LD*	0,003	0,0006
<b>Chumbo (mgPb L<sup>-1</sup>)</b>	0,21	0,04	0,01
<b>Cobre (mgCu L<sup>-1</sup>)</b>	<LD*	<LD*	0,003
<b>Cromo total (mgCr L<sup>-1</sup>)</b>	<LD*	<LD*	0,005
<b>Ferro (mgFe L<sup>-1</sup>)</b>	2,24	0,60	0,005
<b>Manganês (mgMn L<sup>-1</sup>)</b>	0,08	0,11	0,003
<b>Níquel (mgNi L<sup>-1</sup>)</b>	0,03	<LD*	0,008
<b>Zinco (mgZn L<sup>-1</sup>)</b>	0,36	0,090	0,002

\*Inferior ao Limite de Detecção do método de determinação.

Metais como o Cádmio, Chumbo, Cobre, Níquel e Zinco também foram observados em Estações de Tratamento de Esgotos dos municípios de Barueri e Suzano, localizados na região metropolitana de São Paulo, sendo que essas duas estações também recebem água residuária. O Cádmio é considerado o metal mais perigoso devido as suas implicações com a saúde humana, enquanto Zinco, Cobre, Níquel, Chumbo e Cromo são os que oferecem menor risco (TSUTIYA, 2002).

Duas amostras do esgoto sanitário, que continham maior concentração de LAS (Amostra A: 11,50 mg L<sup>-1</sup> e Amostra B: 10,77 mg L<sup>-1</sup>), também foram enviadas para a Central Analítica/Instituto de Química/UNICAMP para análise qualitativa dos compostos orgânicos por cromatografia a gás com espectrometria de massas (Tabela 5.10 e Tabela 5.11).

Tabela 5.10 – Compostos Recalcitrantes Detectados no Esgoto Sanitário de São Carlos - SP.

# Pico <sup>1</sup>	t <sub>R</sub> <sup>2</sup>	Nome do composto <sup>3</sup>	%A <sup>4</sup>	Qualidade <sup>5</sup>
<b>Análise por <i>Headspace</i></b>				
1	10,09	Butil Benzenosulfonamida	25,94	91
2	10,99	Ácido Hexadecanóico	74,06	93
<b>Análise por injeção direta</b>				
Nenhum pico foi detectado				

<sup>1</sup> Número do pico pela ordem de eluição da coluna. Os picos 3,3 e 7,3 minutos são referentes à contaminantes do solvente utilizado na extração líquido-líquido.

<sup>2</sup> t<sub>R</sub> = Tempo de retenção do composto na coluna em minutos.

<sup>3</sup> Nome mais comum do composto identificado.

<sup>4</sup> % A = Porcentagem de área normalizada a qual indica a distribuição relativa dos compostos na amostra.

<sup>5</sup> Qualidade é o índice de pesquisa na base de dados que reflete a similaridade do espectro de massas obtido com os registrados nas bibliotecas utilizadas. Foram adotados índices de qualidade >70.

<sup>5</sup> Atribuído por similaridade.

Butil Benzeno Sulfonamida é um composto orgânico, formado por hidrocarbonetos sulfonados, comercialmente utilizado como plastificante. Este plastificante atua reduzindo o número de ligações de hidrogênio, interferindo diretamente em forças intermoleculares (DOMINGOS et al., 2013).

O Ácido Hexadecanóico é um composto de origem antrópica, amplamente utilizado em formulações de produtos de cuidados pessoais, como perfumes, xampus, condicionadores, protetores solares e principalmente em cremes de barbear. Este ácido também faz parte da composição química da *Licania tomentosa* (CASTILHO; KAPLAN, 2008), uma espécie vegetal, pertencente à família Chrysobalanaceae, composta de 17 gêneros e cerca de 450 espécies. Diversas espécies da família Chrysobalanaceae são muito utilizadas na medicina popular para tratamento de malária, diabetes, antifúngico e inibição do vírus da herpes-simples (PRESTA; PEREIRA, 1987; GESSLER et al., 1995; GARO et al., 1997; MIRANDA et al., 2002). Seus flavonoides tem atividade antioxidante, enquanto seu extrato induz a morte celular (BRACA et al., 2002). O ácido hexadecanóico também foi encontrado por Viola, (2008) no Rio Piracicaba a jusante de Coronel Fabriciano (RD034) em 2006.

Tabela 5.11 - Compostos Recalcitrantes Detectados no Esgoto Sanitário de São Carlos - SP.

#Pico <sup>1</sup>	tr <sup>2</sup>	Nome do composto <sup>3</sup>	%A <sup>4</sup>	Qualidade <sup>5</sup>
<b>Análise por Headspace</b>				
1	4,70	Limoneno	76,79	97
2	4,99	Terpineno	23,21	96
<b>Análise por injeção direta</b>				
1	4,17	Fenol	17,29	91
2	4,73	Limoneno	6,93	91
3	5,004	Não Determinado	2,89	-
4	5,08	Não Determinado	6,29	-
5	5,51	Álcool Fenilético	1,56	74
6	6,03	Não Determinado	2,51	-
7	6,18	Não Determinado	8,17	-
8	6,99	Indolizina	24,25	90
9	7,05	Não Determinado	2,49	-
10	10,47	Cafeína	17,64	91
11	10,51	Isobutil Octadecil Ftalato	7,44	78
12	10,99	Não Determinado	2,53	-

O Limoneno, composto orgânico (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>) que pertence à família dos terpenos e responsável pelo aroma forte dos cítricos, é o principal constituinte dos óleos essenciais da laranja (0,92%) e resistente a biodegradação. É um líquido oleoso incolor, obtido através da prensagem do resíduo úmido da laranja (casca, bagaço e semente) após a extração do suco e destilação do licor cítrico (PONEZI et al., 2005). Ponezi et al., (2005) avaliaram a remoção de limoneno em sistemas de lodos ativados de tratamento de água residuária de indústria cítrica. De acordo com os autores, a população microbiana não foi capaz de metabolizar totalmente o Limoneno, provavelmente, sob tais condições os microrganismos aeróbios não

desenvolveram sistema enzimático capaz de biodegradar completamente compostos com anéis aromáticos, como o limoneno. Segundo Uribe; Pena, (1990), o limoneno é tóxico para diversos microrganismos em sistemas biológicos de tratamento de esgoto sanitário. Shaw (1977) afirmou que tal composto orgânico é uma barreira natural de controle microbiológico, podendo causar distúrbios em sistemas biológicos de tratamento de efluente e, também, pode ser tóxico para o ser humano, causando irritações na pele e olhos.

O Terpineno é um monoterpene e possui origem vegetal, fazendo parte da composição do óleo essencial e do extrato obtido a partir das folhas de *H. coronarium* (MARTINS et al., 2010), e apresenta atividade microbiana, pois em geral, compostos polifenólicos e óleos essenciais, como os terpenos, apresentam este tipo de atividade (SIMÕES et al., 2007). Segundo Ponezi et al., (2005), o terpineno é transformado em terpeno por microrganismos que utilizam o limoneno como fonte de carbono.

O Fenol é um composto orgânico, caracterizado por uma ou mais hidroxilas ligadas a um anel aromático. Os compostos fenólicos constituem vários efluentes industriais, tais como, de indústria de beneficiamento da castanha de caju, de refinarias de petróleo, de indústrias têxteis, de papel e celulose, de azeite de oliva e fundições de metais, entre outros (VINCIGUERRA et al., 1995; GARCÍA et al., 2000; ASSADI; JAHANGIRI, 2001; SAHOO; GUPTA, 2005). Os fenóis são compostos ácidos, bactericidas, com efeitos carcinogênicos e mutagênicos (BOLAÑOS et al, 2001). Apesar de interferirem em tratamentos biológicos de efluentes, devido a sua ação bactericida e ser tóxico para diversos microrganismos, Rodrigues et al., (2007) relatou eficiência de 100% na remoção de fenol de meio sintético com adição de glicose ( $5 \text{ g L}^{-1}$ ), como fonte primária de carbono, em reatores em batelada inoculados com o fungo *Aspergillus niger*.

O Álcool Feniletílico é um álcool primário de formulação  $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}$ , líquido incolor e ocorre amplamente na natureza, constituindo boa parte de essências naturais de flores e frutos. Está presente em alguns alimentos, como chás, café, cacau, cerveja, queijo, entre outros e também é utilizado como matéria-prima para cosméticos (BELUCI; MORAES, 2013). Diversos autores identificaram este álcool na composição de mel (DE MARIA; MOREIRA, 2003).

A Indolizina (formula química  $\text{C}_8\text{H}_7\text{N}$ ) é um composto orgânico aromático heterocíclico. É dificilmente encontrada na natureza, mas tem sido isolada de plantas, insetos, vida marinha e micróbios (ONG et al., 2002). Seus derivados têm sido muito utilizados devido à sua atividade biológica, como antibacteriano, antiviral e antileishmania, anti-inflamatória, analgésica, antitumoral, antioxidante, inibidores aromatase, bloqueadores de canais de cálcio,

anti-histamínico H3 e agroquímico (AMPAGNA et al., 1990; OLDEN et al., 1991; MALONNE; HANUISE; FONTAINE, 1998; ZHOU; HU; HU, 1999; SONNET et al., 2000; CHAI et al., 2003; GUNDERSEN et al., 2003; GUPTA et al., 2003; DE BOLLE et al., 2004; TEKLU et al., 2005).

A Cafeína possui a fórmula  $C_8H_{10}N_4O_2$ , é encontrada em plantas e é utilizada para o consumo em diversas bebidas e medicamentos, como os analgésicos. De origem antropogênica, sua presença é considerada um indicador de contaminação de esgotos domésticos, pois a cafeína não é consumida por animais e nem está presente em fertilizantes (WILKISON et al., 2003; TUBBS; FREIRE; YOSHINAGA, 2004).

O Isobutil Octadecil Ftalato é um derivado do Ftalato que é utilizado como aditivo para deixar o plástico mais maleável. Tal composto é utilizado em cosméticos também, como esmalte, perfume, sprays de cabelo, hidratante, sabonetes líquidos, antitranspirantes, desodorantes, condicionadores e xampus, sendo responsáveis pelo aspecto líquido ou de cremosidade. Este composto é tido como cancerígeno, podendo causar danos ao fígado, rins e pulmão, além de ser associado a problemas reprodutivos em animais silvestres (BUSTAMANTE et al., 2001; DUTY, 2005; BARROS, 2010; HESS, 2010; HUBINGER, 2010; EQUIPE ECYCLE, 2014).

## **5.2. Monitoramento do Reator EGSB**

Neste trabalho o reator EGSB foi alimentado somente com esgoto sanitário oriundo da Estação de Tratamento de Esgoto da cidade de São Carlos – SP. O esgoto sanitário foi captado pós-tratamento preliminar para a retirada de sólidos e areia.

### **5.2.1. Alcalinidade, pH, Sulfato e Sulfeto**

O controle de parâmetros como pH, alcalinidade, sulfato e sulfeto é essencial em processos anaeróbios. Segundo Lobner et al., (2005) a manutenção da estabilidade do reator aumenta a eficiência de remoção de LAS. Variações e mudanças bruscas destas variáveis afetam a microbiota de reatores anaeróbios, comprometendo o processo como um todo e, portanto, foram monitorados semanalmente esses parâmetros (Tabela 5.12).

Tabela 5.12 – Parâmetros de Monitoramento do Reator EGSB.

<b>pH</b>	
<b>Afluente</b>	7,14 ± 0,26
<b>Efluente</b>	7,26 ± 0,31
<b>Sulfato</b>	
<b>Afluente (mg L<sup>-1</sup>)</b>	59,29 ± 44,91
<b>Efluente (mg L<sup>-1</sup>)</b>	38,19 ± 13,27
<b>Redução (%)</b>	64,41 ± 29,55
<b>Sulfeto</b>	
<b>Efluente (mg L<sup>-1</sup>)</b>	2,53 ± 1,10
<b>Alcalinidade Parcial</b>	
<b>Afluente (mgCaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>)</b>	130,28 ± 34,06
<b>Efluente (mgCaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>)</b>	184,41 ± 56,43
<b>Alcalinidade Total</b>	
<b>Afluente (mgCaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>)</b>	206,67 ± 46,76
<b>Efluente (mgCaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>)</b>	234,61 ± 64,39
<b>TDH (h)</b>	35,79 ± 3,42
<b>Duração (dias)</b>	314

Observou-se que os valores de pH foram próximos a neutralidade, ou seja  $7,14 \pm 0,26$  e  $7,26 \pm 0,31$  para o afluente e efluente, respectivamente. No primeiro mês de operação, não ocorreu comprometimento do pH do sistema (pH efluente  $7,19 \pm 0,18$ ). O menor valor de pH efluente obtido durante os 314 dias de operação foi próximo a neutralidade (pH 6,1). Portanto, pode-se observar que o LAS não comprometeu o pH do sistema, assim como observado por Faria, (2015), que avaliou a remoção do LAS em reator EGSB alimentado com água residuária de lavanderia diluída em esgoto sanitário.

Analisando os resultados de pH, alcalinidade total e parcial, observou-se boa capacidade de tamponamento e conseqüentemente operação estável do reator EGSB. Neste trabalho não foi adicionado bicarbonato de sódio ao reator como em outros estudos de remoção de LAS com reator EGSB. Entretanto, a alcalinidade obtida foi próxima a observada por Delforno (2011). Delforno (2011) adicionou bicarbonato de sódio de forma gradativa, obtendo-se alcalinidade parcial de  $245 \pm 57 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  afluente e  $170 \pm 45 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  efluente. Já para a alcalinidade total, os valores foram  $314 \pm 67 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  afluente e  $230 \pm 51 \text{ mgCaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  efluente.

A concentração média de sulfato efluente, para os 314 dias de operação, foi de  $38,19 \pm 13,27 \text{ mg L}^{-1}$ . A concentração mínima efluente de  $10,2 \text{ mg L}^{-1}$  foi observada no primeiro mês de operação, indicando baixa assimilação de sulfato pelos microrganismos neste período, uma vez que o enxofre é incorporado em constituintes celulares.

O enxofre está presente no esgoto sanitário através da degradação de proteínas provenientes de efluentes industriais, tais como de papel e celulose, química, farmacêutica, etc e também do LAS. A etapa final da degradação do LAS é a abertura do anel aromático e a etapa mais difícil é a ruptura da ligação do radical alquila com o anel aromático sulfonado (CAVALLI; GELLERA; LANDONE, 1993).

### 5.2.2. Remoção da Matéria Orgânica e LAS

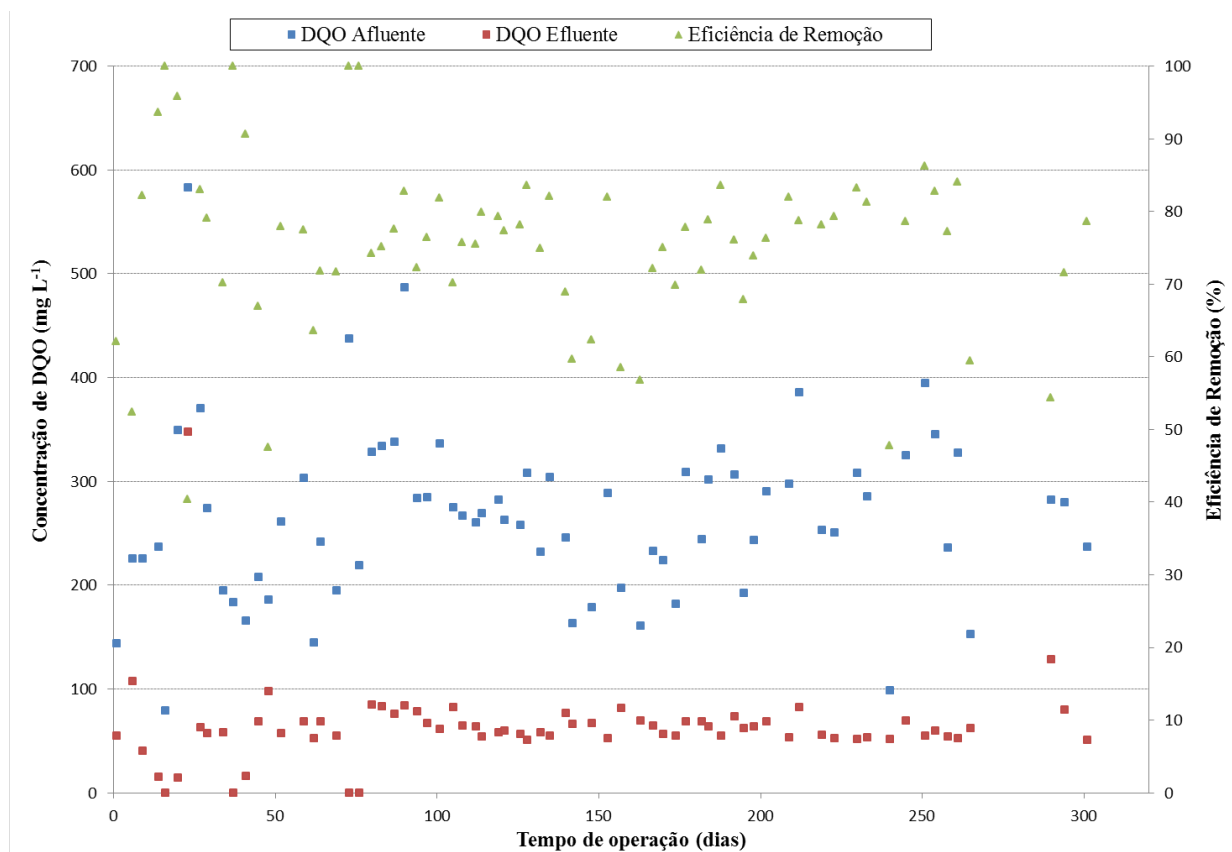
Na Tabela 5.13 estão apresentados os valores médios de DQO do presente estudo. O reator foi operado por 314 dias com TDH de  $35,79 \pm 3,42$  horas controlado diariamente.

A DQO média afluente dos 314 dias de operação foi de  $265,82 \pm 82,36 \text{ mg L}^{-1}$  e efluente de  $63,24 \pm 40,67 \text{ mg L}^{-1}$ , com eficiência de remoção de  $75,5 \pm 11,9\%$  (Figura 5.8). A média total de Carga Orgânica Volumétrica (COV) foi de  $0,18 \pm 0,05 \text{ Kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  e a média total da Carga Orgânica Removida foi de  $0,13 \pm 0,05 \text{ Kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  (Figura 5.9).

Tabela 5.13 – Valores Médios de DQO do Reator EGSB.

DQO	
Afluente (mg L <sup>-1</sup> )	265,82 ± 82,36
Efluente (mg L <sup>-1</sup> )	63,24 ± 40,67
Eficiência de Remoção (%)	75,5 ± 11,9
Carga Orgânica Volumétrica (Kg m <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup> )	0,18 ± 0,05
Carga Orgânica Removida (Kg m <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup> )	0,13 ± 0,05
TDH (h)	35,79 ± 3,42
Duração (dias)	314

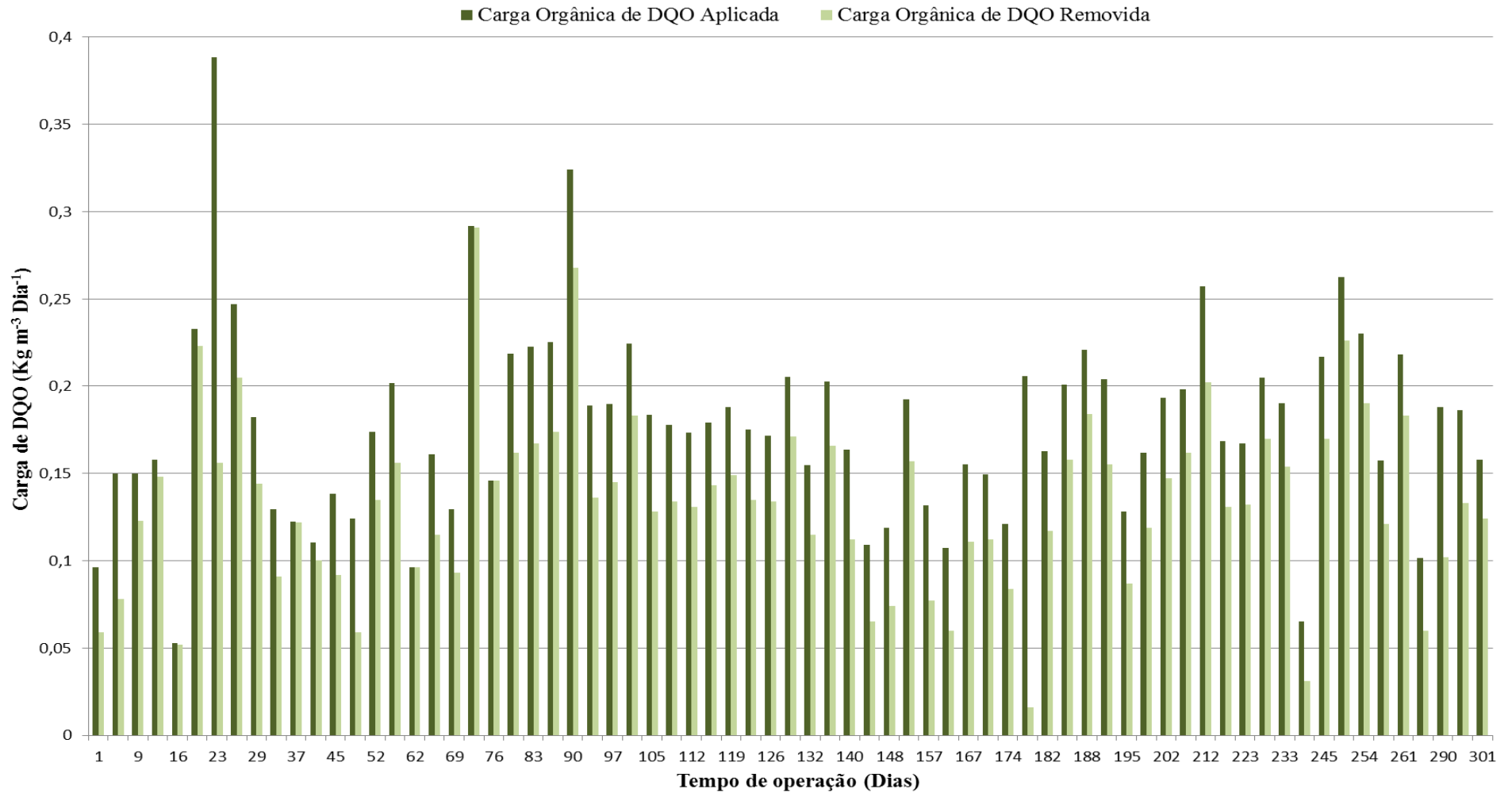
Figura 5.8 - Variação temporal da Remoção da Matéria Orgânica.



Fonte: Autor.



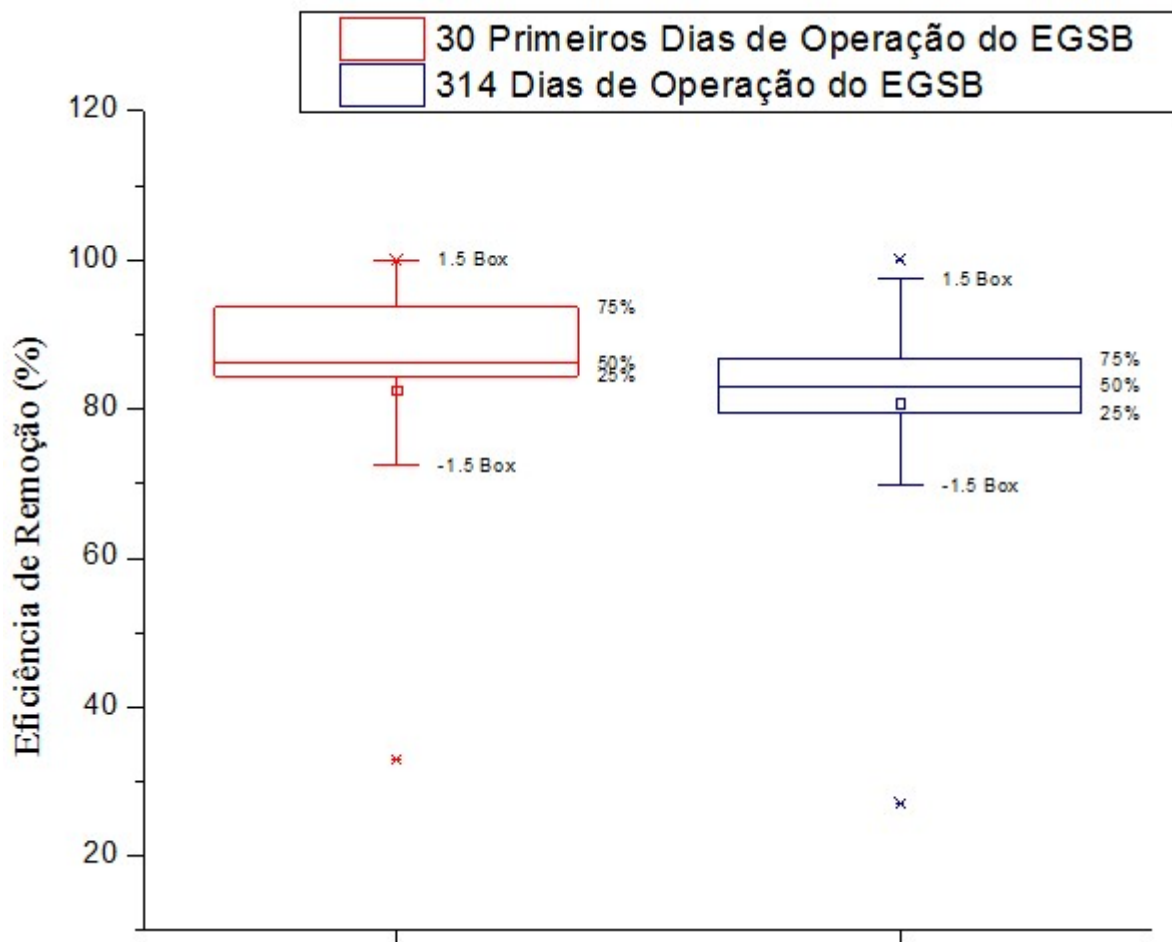
Figura 5.9 – Variação Temporal da Carga Orgânica Aplicada e da Carga Orgânica Removida para a DQO.



Fonte: Autor.

A média de DQO afluente, para os 314 dias de operação foi  $265,82 \pm 82,36 \text{ mg L}^{-1}$  com eficiência de remoção de  $75,5 \pm 11,9\%$ , obtendo essa porcentagem média de remoção ( $78,1 \pm 19,9\%$  no primeiro mês) desde o primeiro mês de operação (Figura 5.10). Portanto, pode-se observar rápida adaptação da biomassa às condições hidráulicas do reator e a composição dos substratos orgânicos. Duarte et al., (2010a), Oliveira et al., (2010), Delforno et al., (2014), Braga et al., (2015a) e Macedo et al., (2015), estudaram a degradação do LAS em diferentes configurações reacionais e também não observaram interferência na eficiência de remoção da matéria orgânica devido à presença do surfactante ou dos demais compostos da água residuária de lavanderia comercial, ou sabão em pó (CAROSIA et al., 2014).

Figura 5.10 – Box Plot da Eficiência de Remoção da DQO Bruta do Primeiro Mês de Operação e da Média Geral de Operação do EGSB.



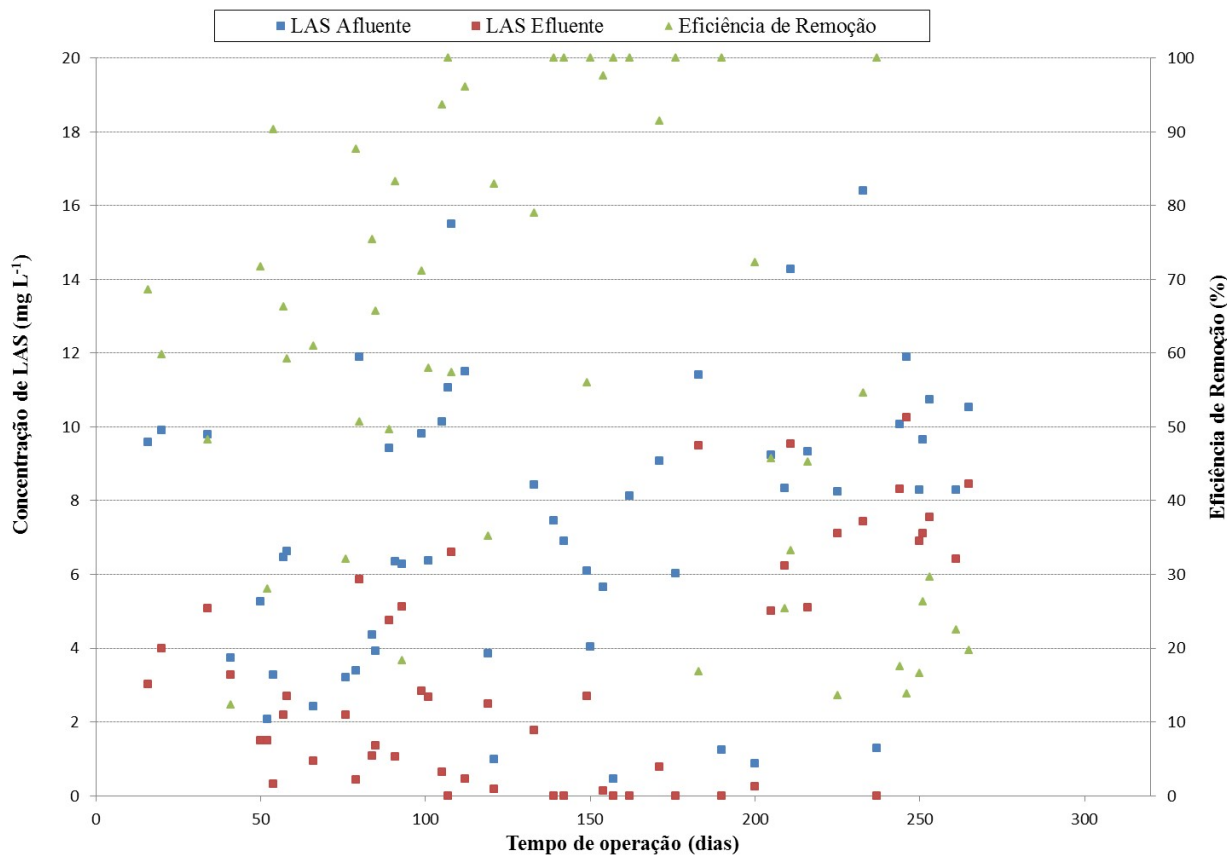
Fonte: Autor.

Na tabela 5.14 estão apresentados os valores médios de LAS do presente estudo. O LAS afluente para os 314 dias de operação foi de  $7,35 \pm 3,76 \text{ mg L}^{-1}$  e efluente de  $3,32 \pm 3,08 \text{ mg L}^{-1}$ , obtendo-se eficiência de remoção de  $60,37 \pm 29,84\%$  (Figura 5.11).

Tabela 5.14 – Valores Médios de LAS do Reator EGSB.

<b>LAS</b>	
<b>Afluente (<math>\text{mg L}^{-1}</math>)</b>	$7,35 \pm 3,76$
<b>Efluente (<math>\text{mg L}^{-1}</math>)</b>	$3,32 \pm 3,08$
<b>Eficiência de Remoção (%)</b>	$60,37 \pm 29,84$
<b>Carga Específica (<math>\text{mgLAS gSV}^{-1} \text{ d}^{-1}</math>)</b>	$1,37 \pm 0,69$
<b>Carga de LAS Aplicada (<math>\text{mgLAS L}^{-1} \text{ d}^{-1}</math>)</b>	$4,90 \pm 2,51$
<b>Carga de LAS Removida (<math>\text{mgLAS L}^{-1} \text{ d}^{-1}</math>)</b>	$2,73 \pm 1,90$
<b>Relação Carga Removida/Carga Aplicada</b>	$0,60 \pm 0,30$
<b>TDH (h)</b>	$35,79 \pm 3,42$
<b>Duração (dias)</b>	314

Figura 5.11 - Variação Temporal da Remoção do LAS.



Fonte: Autor.

Desde o primeiro dia de operação, o reator foi alimentado com esgoto sanitário do município de São Carlos – SP contendo LAS, não sendo adicionado de forma gradual. A média de LAS afluente nos primeiros meses de operação foi de  $6,63 \pm 3,50 \text{ mg L}^{-1}$  e  $72,8 \pm 10,34\%$  de remoção. Para os 314 dias de operação observou-se LAS afluente de  $7,35 \pm 3,76 \text{ mg L}^{-1}$  e  $60,37 \pm 29,84 \%$  de remoção (Tabela 5.15).

Tabela 5.15: Concentração de LAS Afluente e Porcentagem de Remoção do Reator EGSB nos Primeiros Meses e Durante Toda a Operação.

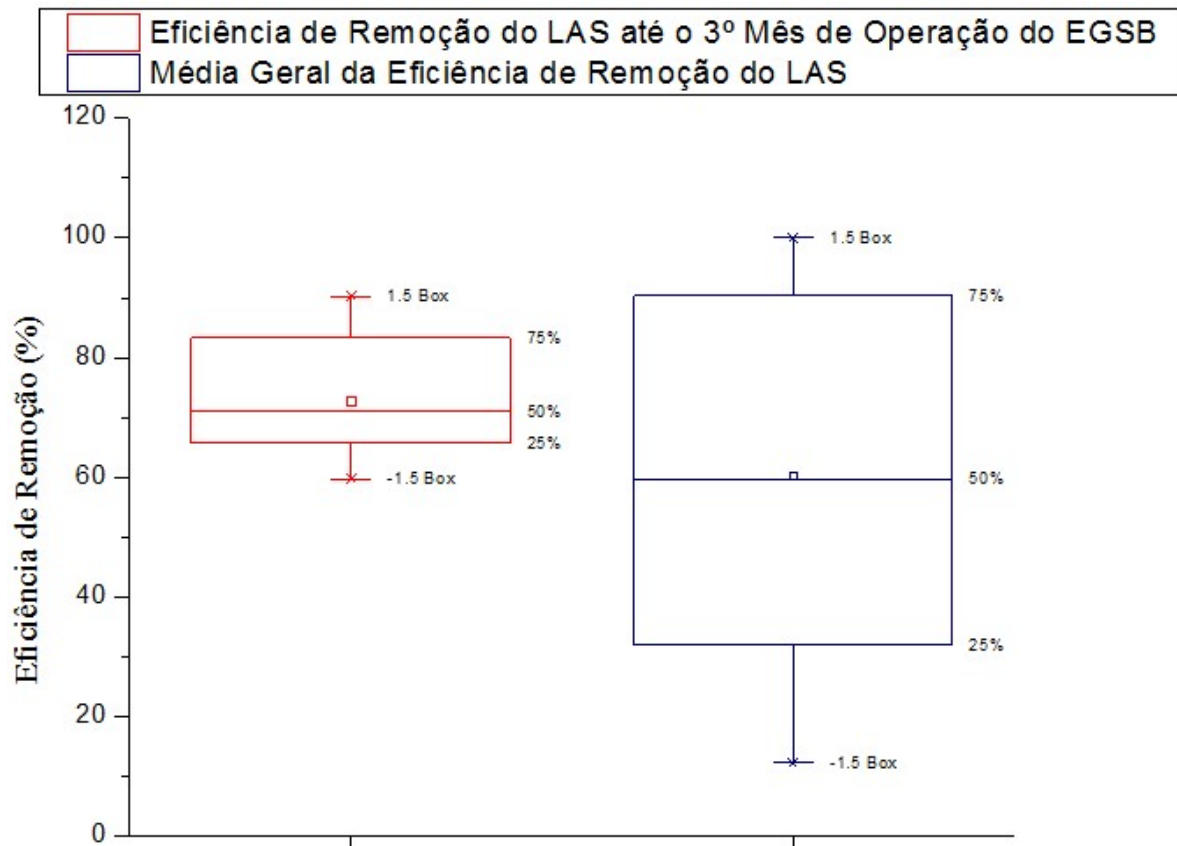
	Primeiros meses (1º ao 3º mês de operação)	314 dias de operação
LAS afluente ( $\text{mg L}^{-1}$ )	$6,63 \pm 3,50$	$7,35 \pm 3,76$
Eficiência de Remoção (%)	$72,8 \pm 10,34$	$60,37 \pm 29,84$

Durante o primeiro mês de operação, não foi observada variação significativa da concentração afluente de LAS ao EGSB em comparação com a média geral dos 314 dias, mas no primeiro mês de operação foi observada remoção de LAS 12,43% maior que a média geral da operação (Figura 5.12), podendo ser, provavelmente, devido à adsorção do LAS aos grânulos do reator EGSB e à toxicidade do LAS aos microrganismos.

Segundo García et al., (2002) a adsorção de LAS ao lodo de inóculo torna-se mais difícil conforme os sítios ativos do lodo são preenchidos pelas moléculas do surfactante. Okada et al., (2009) avaliaram a adsorção de LAS em lodo granular de reator UASB. Tais autores verificaram que à medida que os sítios ativos do lodo granular foram preenchidos com moléculas do surfactante, esgotou-se a capacidade de adsorção de LAS ao lodo. Delforno et al., (2012) avaliaram a remoção de LAS em reator EGSB, operado com TDH de 32 horas e alimentado com água residuária de lavanderia, e também relacionaram a diferença de 10% na remoção média de LAS (74% na fase inicial de operação e 64% na fase final) com a adsorção do LAS aos grânulos do lodo EGSB no início da operação.

Segundo Mosche e Meyer, (2002) muitos processos de tratamentos anaeróbios são afetados pela toxicidade do LAS, pois elevado tempo de contato da biomassa com o surfactante pode prejudicar a atividade dos microrganismos, devido ao seu efeito tóxico por meio da inibição imediata e subsequente diminuição da atividade bacteriana.

Figura 5.12 - Box Plot da Eficiência de Remoção LAS até o 3º Mês de Operação e da Média Geral de Operação do EGSB.



Fonte: Autor.

Faria, (2015) observou diminuição da remoção do LAS após adição de esgoto sanitário na alimentação de reator EGSB. Na fase inicial o reator foi alimentado com água residuária de lavanderia diluída em água de abastecimento, com remoção de  $77,2 \pm 14,9\%$  de LAS para  $18,8 \text{ mg L}^{-1}$  afluente. Na fase final, com alimentação com água residuária de lavanderia diluída em esgoto sanitário a remoção passou a ser  $55,3 \pm 18,4\%$  para  $18,8 \text{ mg L}^{-1}$  afluente. Delforno et al., (2014) relataram aumento da remoção do LAS após adição de água residuária de lavanderia na alimentação de reator EGSB. Na primeira fase de operação, o reator foi alimentado com LAS padrão e obteve-se remoção de  $63 \pm 10\%$  para  $13,2 \text{ mg L}^{-1}$  afluente. Na segunda fase de operação, o reator foi alimentado com água residuária de lavanderia e a remoção foi  $78 \pm 18\%$  para  $11,2 \text{ mg L}^{-1}$  afluente. A presença de sequestrantes (EDTA – ácido etilenodiamino tetra-acético), que podem complexar os íons  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ , é comum na água residuária de lavanderia (JAWORSKA et al., 2002) e influenciam na remoção e adsorção do LAS devido a redução da repulsão eletrostática, dificultando a adsorção do LAS na biomassa (WESTALL et al., 1999). Okada et al., (2014) operaram reator UASB com TDH de 35h

alimentado com água residuária de lavanderia. Tais autores também relacionaram a maior remoção de LAS ( $82 \pm 9\%$  para  $11,3 \text{ mg L}^{-1}$  afluente) a presença de sequestrantes como o EDTA, que ocasionou na diminuição de LAS adsorvido, resultando em maior taxa de degradação. No caso específico desse trabalho não foi adicionado EDTA e a remoção foi de  $60,37 \pm 29,84\%$  de LAS para  $7,35 \pm 3,76 \text{ mg L}^{-1}$  afluente.

A adição de co-substratos complexos, como extrato de levedura e sacarose, favorece a formação de consórcio microbiano responsável pela degradação do LAS, bem como proporciona nutrientes necessários para manter a atividade dos microrganismos (KHLEIFAT, 2006). De acordo com Abboud et al., (2007), os microrganismos responsáveis pela degradação do LAS necessitam de co-substratos para sua atividade enzimática ser estável. Schober (1985) relatou que é apropriado utilizar etanol e metanol durante o primeiro contato das bactérias com o LAS.

Delforno et al., (2012) avaliaram a remoção de LAS em reator EGSB com TDH de 32h. O reator foi alimentado com meio mineral modificado, bicarbonato de sódio, co-substratos (metanol e etanol) e  $14 \text{ mg L}^{-1}$  de LAS padrão, obtendo-se remoção de 74%. OKADA et al., (2013b) avaliaram a remoção de LAS em reator UASB, operado com TDH de 24h e alimentado com  $14 \text{ mg L}^{-1}$  de LAS padrão, álcoois de cadeia curta (metanol e etanol) e extrato de levedura como co-substratos. Para as condições de alimentação do reator com metanol e etanol os autores observaram remoção de 41% de LAS e, quando adicionaram na presença de extrato de levedura, a remoção foi de 50%. Braga et al., (2015b) avaliaram a remoção de LAS de água residuária de lavanderia em Reator Anaeróbio de Leito Fluidificado (RALF). Na primeira fase de operação o reator foi suplementado com sacarose, obtendo-se remoção de  $58,8 \pm 16\%$  de LAS. Na segunda fase de operação, quando a sacarose foi retirada da alimentação do reator, a remoção de LAS foi de  $39,3 \pm 2,06\%$ .

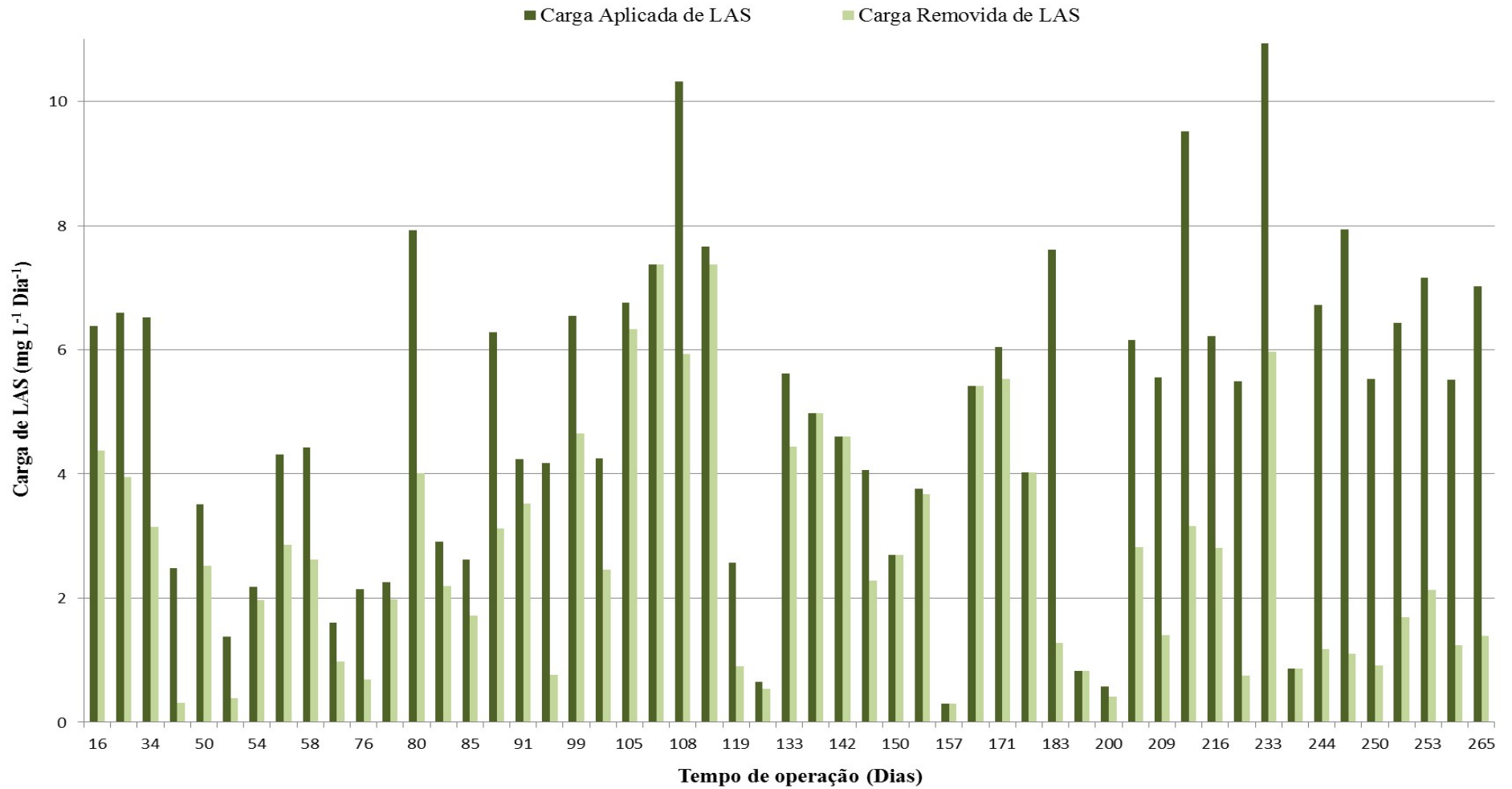
Neste trabalho, optou-se por não suplementar a alimentação do reator com co-substratos que favorecem o crescimento da comunidade microbiana que constituem os grânulos de reatores UASB e EGSB, como as arqueias metanogênicas (OKADA et al., 2013b), para assim poder melhor estudar e avaliar a remoção do LAS e da matéria orgânica do reator EGSB alimentado apenas com esgoto sanitário. A partir dessas considerações, obteve-se remoção de LAS de  $60,37 \pm 29,84\%$ . Tal porcentagem de eficiência de remoção de LAS é próxima a porcentagem de remoção de outros estudos que utilizaram reatores anaeróbios alimentados com água residuária de lavanderia e LAS padrão e adicionaram co-substratos na alimentação, indicando que não há necessidade de suplementação de co-substratos para a remoção do LAS em reator EGSB quando alimentado com esgoto sanitário.

A Carga Específica, Aplicada e Removida de LAS foram de  $1,37 \pm 0,69 \text{ mg gSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ,  $4,90 \pm 2,51 \text{ mgLAS L}^{-1} \text{ d}^{-1}$  e  $2,73 \pm 1,90 \text{ mgLAS L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , respectivamente (Figura 5.13).

Delforno et al., (2012) obtiveram remoção de LAS de 69% em reator EGSB com carga de LAS padrão de  $1,5 \text{ mg gSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ . O presente estudo obteve remoção similar, ou seja,  $60,37 \pm 29,84\%$  para carga específica de LAS de  $1,37 \pm 0,69 \text{ mg gSV}^{-1} \text{ d}^{-1}$ .



Figura 5.13 - Variação Temporal da Carga Aplicada e Carga Removida de LAS.



Fonte: Autor.

No presente estudo, o reator EGSB foi operado com TDH de  $35,79 \pm 3,42$ , alimentado somente com esgoto sanitário, sem suplementação e LAS afluente de  $7,35 \pm 3,76 \text{ mg L}^{-1}$ . Sob tais condições, obteve-se relação de carga removida e aplicada de LAS de  $0,60 \pm 0,30$ . Relação semelhante foi observada por Delforno et al., (2012), Braga, (2014a) e Macedo et al., (2015b).

Delforno et al., (2012) avaliaram a remoção de LAS padrão ( $14,4 \pm 1,0 \text{ mg L}^{-1}$ ) em reator EGSB (TDH de 26 horas) suplementado com etanol e metanol. Tais autores obtiveram relação de 0,6 para remoção de LAS e registraram, nessas condições, eficiência média de remoção de LAS de  $47,8 \pm 6,2\%$ . Macedo et al., (2015b) utilizaram Reator Anaeróbico de Leito Fluidificado (RALF) na remoção de LAS de água residuária de lavanderia. Os autores obtiveram maior remoção de LAS ( $76,8 \pm 16,9\%$ ) para maior relação entre a Carga Orgânica Aplicada e Removida de LAS ( $0,77 \pm 0,17$ ). Braga, (2014a) também usaram RALF para remoção de LAS de água residuária de lavanderia. Nesse último caso a relação foi de 0,7 quando o LAS afluente foi de  $9,5 \pm 3 \text{ mg L}^{-1}$  e quando a concentração de LAS afluente foi de  $23,34 \pm 5,49 \text{ mg L}^{-1}$ , a relação decresceu para 0,6.

### 5.2.3. Ácidos Orgânicos Voláteis

Na Tabela 5.16 estão sintetizados os valores observados de ácido acético (determinado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) e a somatório dos ácidos orgânicos voláteis (determinados por titulação).

Tabela 5.16 – Ácidos, Concentração de LAS Afluente e Remoção de LAS em 270 Dias e 314 Dias de Operação do Reator EGSB.

	270 dias de operação	314 dias de operação
Ácido acético Efluente ( $\text{mg L}^{-1}$ )	6,52	-
Ácidos Orgânicos Voláteis Totais Afluente ( $\text{mg L}^{-1}$ )	$19 \pm 15,2$	$24,22 \pm 22$
Ácidos Orgânicos Voláteis Totais Efluente ( $\text{mg L}^{-1}$ )	$85,32 \pm 16,64$	$88,26 \pm 23,68$
LAS Afluente ( $\text{mg L}^{-1}$ )	$9,31 \pm 3,69$	$6,711 \pm 3,93$
Remoção de LAS (%)	$24,6 \pm 14,81$	$60,37 \pm 29,84$

Foi observado, durante 270 dias de operação do reator EGSB,  $19 \pm 15,2 \text{ mg L}^{-1}$  e  $85,32 \pm 16,64 \text{ mg L}^{-1}$  de ácidos orgânicos voláteis afluente e efluente, respectivamente. Para 314 dias de operação, a concentração de ácidos orgânicos afluente e efluente foram  $24,22 \pm 22 \text{ mg L}^{-1}$  e  $88,26 \pm 23,68 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente. Durante todo período operacional foi observado somente  $6,52 \text{ mg L}^{-1}$  de ácido acético efluente após 270 dias de operação, evidenciando estabilidade reacional do sistema. Um reator estável tem baixa concentração de ácidos orgânicos voláteis, pois são consumidos à medida que são produzidos. A relação entre a alcalinidade a bicarbonatos e ácidos orgânicos voláteis constitui, conceitualmente, a principal forma de avaliação da estabilidade do processo anaeróbio, pois o desequilíbrio reacional acarreta no consumo da alcalinidade para neutralização dos ácidos orgânicos voláteis acumulados (PIVELI, 2003). Ahring; Sandberg; Angelidaki, (1995) observaram que o aumento da concentração de ácidos orgânicos voláteis é indicativo de instabilidade do processo anaeróbio e desta forma, a estabilidade do reator é fundamental para maiores remoções do surfactante. Carosia et al., (2014) avaliaram a remoção de LAS em reator de leito fluidificado e utilizaram o sabão em pó como fonte de surfactante. A remoção foi de 48% e os autores concluíram que os compostos de sabão em pó inibiram alguns microrganismos, acarretando no aumento da concentração de ácidos orgânicos voláteis presentes no reator e, conseqüentemente, na diminuição da degradação do LAS.

Lobner et al., (2005) alimentaram reator UASB com meio mineral contendo glicose ( $1 \text{ g L}^{-1}$ ) e LAS ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ ). Tais autores relataram maiores remoções de LAS com menores concentrações de ácido acético. Delforno et al., (2012) observaram maiores remoções do LAS, em reator EGSB, com menores concentrações de ácidos orgânicos voláteis totais. Os autores também relacionaram a adaptação da biomassa, a condição com LAS, com a diminuição da concentração de ácido acético efluente. Okada et al., (2013d) relacionaram a concentração de ácido acético no efluente com a remoção de LAS. Os autores observaram 29% a 49% de eficiência de remoção de LAS em reator UASB e EGSB, respectivamente. A eficiência da remoção de LAS no reator EGSB foi relacionada à baixa concentração de ácido acético no efluente (menor que  $5 \text{ mg L}^{-1}$ ). Portanto, a estabilidade do reator é fundamental para obtenção de maiores remoções do surfactante.

#### 5.2.4. Balanço de Massa de LAS

A adsorção de LAS é influenciada pelo tamanho da cadeia alquílica, sendo observado aumento da adsorção para homólogos com maior cadeia alquílica (GARCÍA et al., 2002). Em lodos e sedimentos, o LAS adsorve por meio das interações hidrofóbicas (não polares) e conforme o comprimento da cadeia aumenta, sua hidrofobicidade também aumenta, diminuindo assim o impacto da carga negativa do grupo sulfonado da molécula nas interações hidrofóbicas (HAND; WILLIAMS, 1987; GARCÍA et al., 2002).

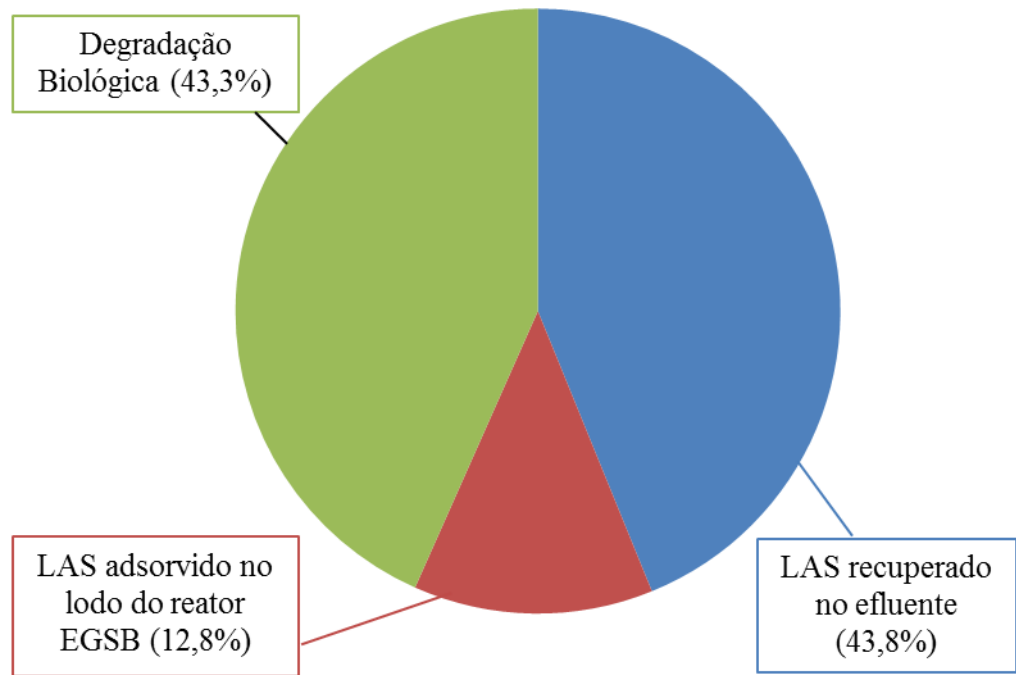
Para tanto, por meio da extração do LAS adsorvido no lodo de inóculo e do reator EGSB no final da operação, foi realizado o cálculo da massa adsorvida nos lodos e calculado o balanço de massa global de LAS (Tabela 5.17).

Tabela 5.17 – Balanço Global de LAS.

	<b>LAS recuperado do efluente</b>	<b>LAS adsorvido no lodo EGSB</b>	<b>LAS removido</b>	<b>LAS degradado biologicamente</b>
<b>g</b>	19,01	5,55	24,39	18,84
<b>%</b>	43,8	12,8	56,2	43,4

Portanto, 12,8% de LAS ficaram adsorvidos nos grânulos do reator EGSB, 43,8% foram recuperados no efluente, 56,2% foram removidos e 43,4% foram biodegradados (Figura 5.14).

Figura 5.14 – Destino do LAS.



Fonte – Autor.

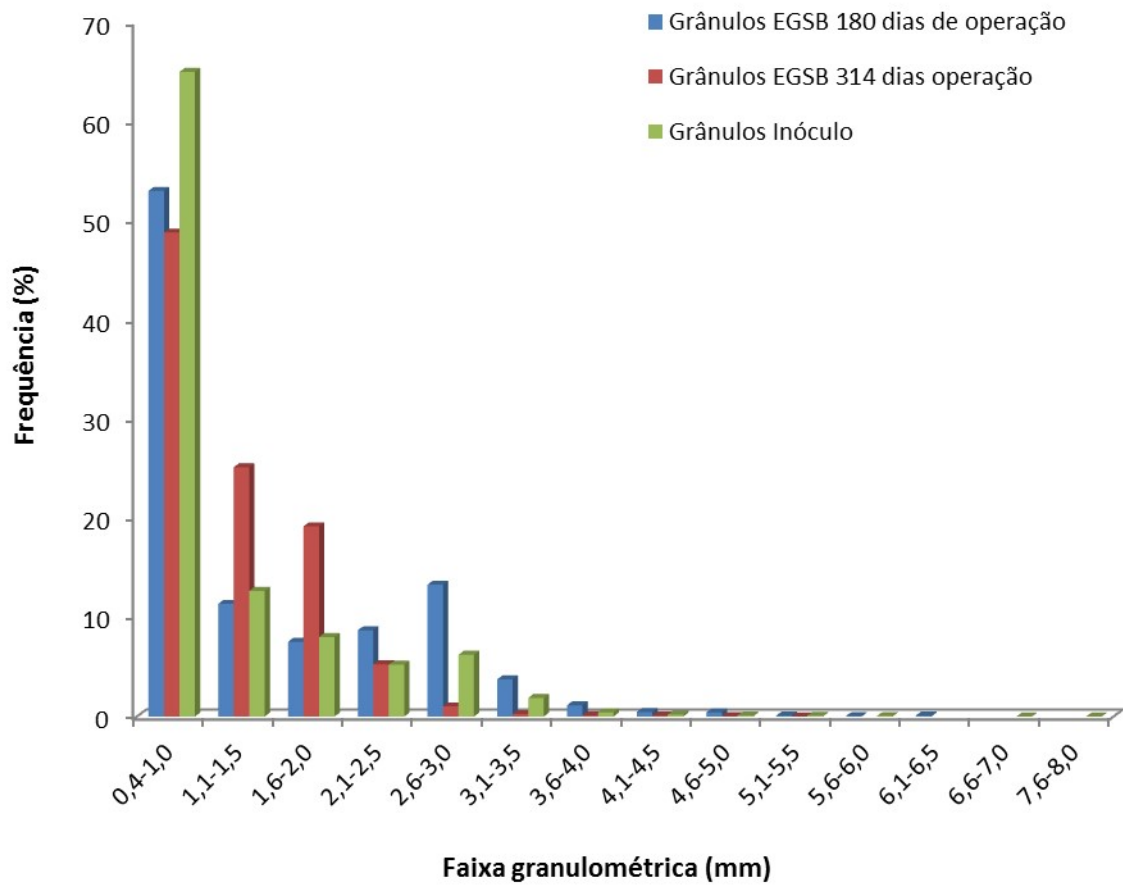
### 5.2.5. Granulometria e Sólidos

Os valores de sólidos totais, sólidos totais fixos e sólidos totais voláteis do afluente e efluente do reator EGSB estão na Tabela 5.18. Os valores da granulometria do lodo de inóculo, lodo do reator EGSB após 180 dias de operação e lodo do reator EGSB ao final da operação (314 dias) estão apresentados na Figura 5.15 e Figura 5.16. A análise de granulometria foi realizada em 7.791 grânulos do lodo do inóculo, 3.939 grânulos do lodo do reator EGSB após 180 dias e 8.207 grânulos do lodo do reator EGSB após 314 dias.

Tabela 5.18 - Valores Médios dos Sólidos Afluente e Efluentes do Reator EGSB.

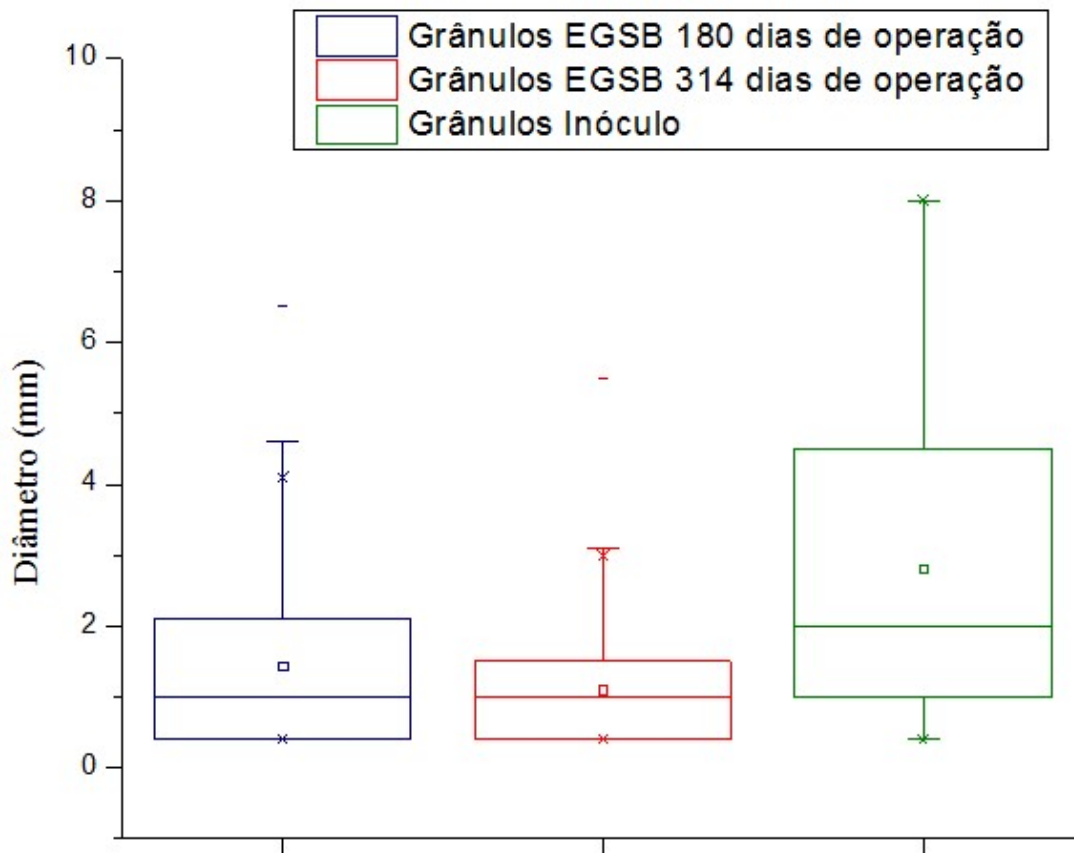
<b>Parâmetro</b>	<b>Média Total dos 314 dias</b>	<b>Início – primeiros 30 dias</b>	<b>180 dias</b>	<b>Final – últimos 30 dias</b>
<b>Afluente</b>				
<b>Sólidos Totais (g L<sup>-1</sup>)</b>	0,25 ± 0,01	0,18 ± 0,1	0,19 ± 0,1	0,13 ± 0,1
<b>Sólidos Totais Fixos (g L<sup>-1</sup>)</b>	0,14 ± 0,1	0,07 ± 0,04	0,012 ± 0,01	0,01 ± 0,02
<b>Sólidos Totais Voláteis (g L<sup>-1</sup>)</b>	0,11 ± 0,07	0,11 ± 0,07	0,11 ± 0,1	0,15 ± 0,1
<b>Efluente</b>				
<b>Sólidos Totais (g L<sup>-1</sup>)</b>	0,17 ± 0,09	33,36 ± 47,15	0,21 ± 0,04	0,21 ± 0,01
<b>Sólidos Totais Fixos (g L<sup>-1</sup>)</b>	0,03 ± 0,04	0,04 ± 0,05	0,08 ± 0,05	0,006 ± 0,004
<b>Sólidos Totais Voláteis (g L<sup>-1</sup>)</b>	0,14 ± 0,09	33,32 ± 47,09	0,13 ± 0,01	0,205 ± 0,008

Figura 5.15 - Distribuição da Frequência do Tamanho dos Grânulos do Lodo de Inóculo e do Reator EGSB.



Fonte: Autor.

Figura 5.16 – Box Plot para Distribuição do Diâmetro dos Grânulos do Lodo do Reator EGSB após 180 Dias de Operação, após 314 Dias de Operação e do Lodo de Inóculo.



Fonte: Autor.

Verificou-se no primeiro mês de operação que os sólidos totais efluente do reator EGSB foram 196 vezes maior em relação aos sólidos totais efluentes após 314 dias de operação. Esta maior liberação de sólidos no efluente do reator se repetiu, porém em menor proporção, após 180 dias e ao final da operação (últimos 30 dias). Delforno et al., (2012) relataram aumento de sólidos totais no reator EGSB em 261% após a adição de LAS na alimentação, além da diminuição do diâmetro médio. Os autores relacionaram a desestruturação dos grânulos e aumento dos sólidos a adição do surfactante associado a alta velocidade do fluxo ascendente do reator EGSB. Faria, (2015) avaliou a remoção de LAS em água residuária de lavanderia (diluída em água de abastecimento e diluída em esgoto sanitário) em reator EGSB. Em tal estudo, foi relatado acréscimo de sólidos totais no reator após a introdução de esgoto sanitário na alimentação. No caso específico do reator EGSB da ETE de São Carlos – SP, observou-se aumento significativo dos sólidos totais e sólidos totais voláteis nos primeiros 30 dias de operação ( $33,36 \pm 47,15 \text{ g L}^{-1}$  e  $33,32 \pm 47,09 \text{ g L}^{-1}$ , respectivamente).



Grânulos são agregados microbianos provenientes de interações hidrofóbicas e hidrofílicas. A quebra da tensão superficial causada pelos surfactantes pode desestabilizar essas interações, ocasionando em diminuição do diâmetro dos grânulos e perda de biomassa (DAFFONCHIO et al., 1995). Segundo Ruffo et al., (1999), a não adaptação da biomassa ao LAS afeta de forma negativa os microrganismos, desestruturando os grânulos e diminuindo a capacidade de biodegradação do LAS, devido à toxicidade deste surfactante principalmente para as arqueias metanogênicas, as quais são mais sensíveis a este composto. Deve-se destacar que em 180 dias de operação, pode-se observar que a concentração de sólidos totais voláteis (que representam em grande parte a biomassa) constituiu 60% dos sólidos totais e ao final da operação, essa porcentagem foi de 97%. Tal acontecimento pode ser justificado devido à diminuição do diâmetro dos grânulos. A frequência de grânulos maiores (5,6 a 8,0 mm) foi maior para o lodo de inóculo e para o lodo após 180 dias de operação, em relação ao lodo dos 314 dias de operação. A frequência dos grânulos menores (1,1 a 2,1 mm) foi maior ao final da operação (314 dias), em relação aos grânulos do inóculo e após 180 dias de operação (Figura 5.15). Na Figura 5.16 pode ser observado diâmetro médio de  $2,81 \pm 2,28$  mm para o lodo de inóculo,  $1,45 \pm 0,99$  mm para o lodo após 180 dias de operação e  $1,11 \pm 0,63$  mm para o lodo após 314 dias de operação.

Yan e Tay (1997) descreveram que a predominância dos grânulos com tamanhos entre 0,2 e 2,2 mm indica fase de crescimento ou então fase de decomposição, enquanto grânulos com tamanho entre 2,3 a 3,0 mm indica estágio de maturação.

A partir da análise da distribuição dos grânulos do inóculo, dos grânulos após 180 dias de operação e ao final da operação (314 dias), pode-se inferir que além do processo de formação e maturação dos grânulos, outros parâmetros colaboraram para a diminuição do diâmetro dos grânulos na manta de lodo ao longo da operação do reator EGSB. O lodo do inóculo foi proveniente de um reator UASB de tratamento de água residuária de abatedouro de aves. Nesse sistema era aplicada carga orgânica volumétrica maior em relação àquela aplicada ao reator EGSB alimentado somente com esgoto sanitário.

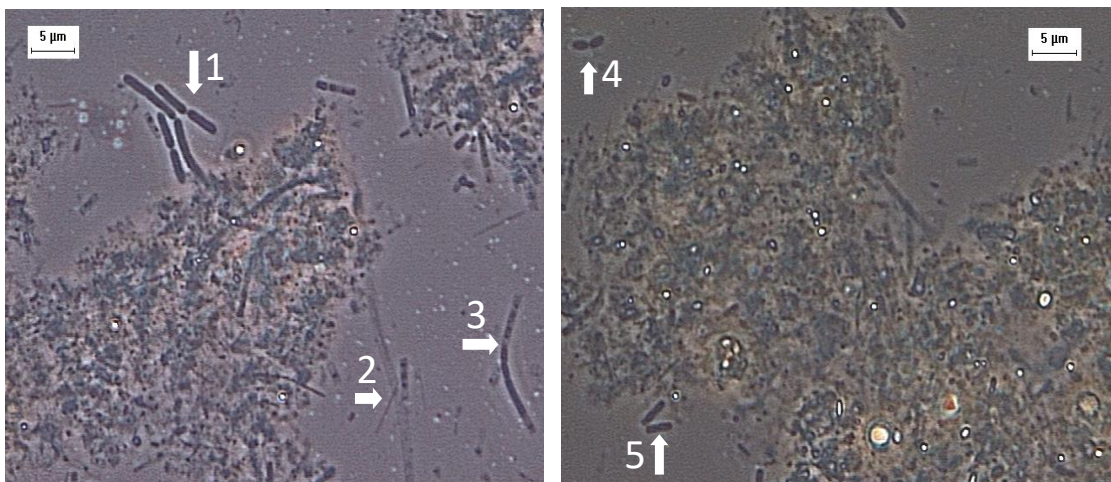
Além de tais fatores, deve-se levar em consideração a alta velocidade ascensional do reator EGSB, o que promove cisalhamento e, como consequência, a diminuição dos diâmetros dos grânulos. Brito e Melo (1999) descreveram que, em condições de escoamento de líquido turbulento, e, portanto, maior tensão de cisalhamento, há efeito sobre a espessura do biofilme, conduzindo a diferentes coeficientes de transferência de massa. Alves (2015) também relatou redução no diâmetro dos grânulos de reator UASB após agitação.

Portanto, a exposição da biomassa ao surfactante, a diminuição da carga orgânica volumétrica e o fator hidráulico da expansão do leito, acarretaram na diminuição do diâmetro dos grânulos do reator EGSB.

### 5.2.6. Microscopia de Contraste de Fase

Foram realizados exames microscópicos do lodo granular de inóculo e ao final da operação do reator EGSB, com a finalidade de avaliar a diversidade morfológica dos microrganismos. Na biomassa do lodo de inóculo foram observados bacilos, bacilos delgados e fragmentos de *Methanosaeta* (Figura 5.17).

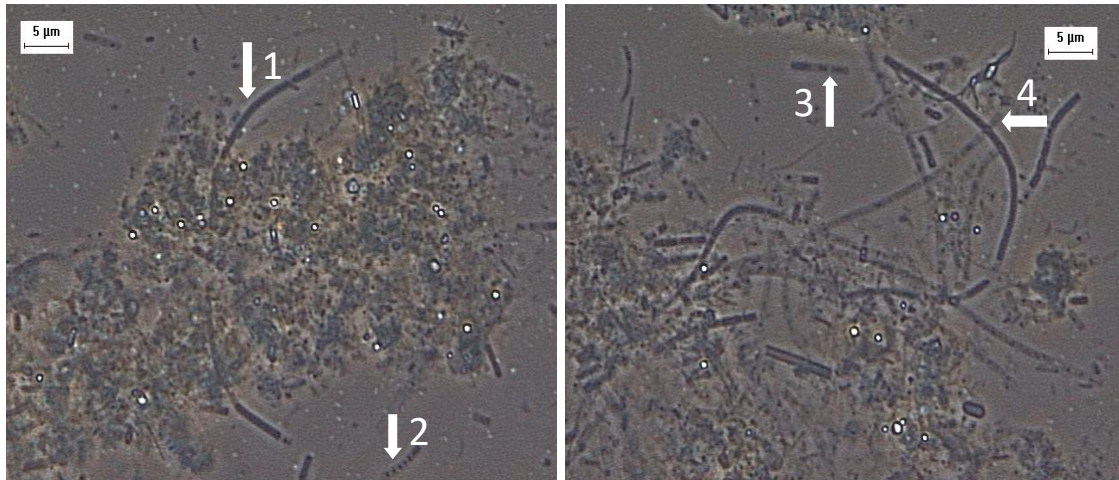
Figura 5.17 – Microscopia Óptica de Contraste de Fase do Lodo Granular de Inóculo: (1) Bacilos, (2) Bacilos Delgados, (3) Fragmentos de *Methanosaeta*, (4) Bacilos, (5) Fragmentos de *Methanosaeta*.



Fonte – Autor.

Pode-se observar na Figura 5.18 a presença de *Methanosaeta* na forma de filamentos longos e finos e bacilos com inclusões.

Figura 5.18 – Microscopia Óptica de Contraste de Fase do Lodo Granular do Reator EGSB:  
 (1) *Methanosaeta*, (2) Bacilos com Inclusões, (3) Bacilos com Inclusões, (4) *Methanosaeta*.



Fonte – Autor.

No lodo de inóculo e ao final da operação, pode ser observado elevada densidade celular. Ocorreu pouca variação da diversidade morfológica microbiana entre o lodo de inóculo e o lodo do reator EGSB, indicando assim que a alimentação com LAS não foi suficiente para gerar grande impacto na microbiota. Apesar das arqueias metanogênicas serem mais sensíveis a mudanças ambientais e à presença de compostos tóxicos ou inibitórios, como o LAS, em relação às bactérias acidogênicas, é interessante salientar que morfologias semelhantes a tais arqueias foram observadas na biomassa em ambos os lodos.

*Methanosaetas* são arqueias pertencentes à família *Methanosarcinaceae*, que utilizam exclusivamente o ácido acético como substrato para a metanogênese (ZHILINA, 1972). Segundo Wagener; Schink, (1987) concentrações iguais ou superiores a  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de LAS em reator anaeróbio de leito fixo, usando água residuária sintética a  $28^\circ\text{C}$ , inibe a metanogênese e, conseqüentemente, a microbiota responsável por sua degradação. Gavala; Ahring, (2002) constataram, através da operação superior a 1 ano de reatores em batelada com TDH de 15 dias e lodo anaeróbio aclimatado ao LAS, que bactérias consumidoras de ácido propiônico são mais sensíveis à presença de LAS ( $100$  a  $150 \text{ mg L}^{-1}$ ), do que as arqueias metanogênicas acetoclásticas. A inibição provavelmente foi causada devido à interação do LAS com as membranas microbianas das bactérias, impedindo assim o transporte dos nutrientes e substratos para dentro das células bacterianas. Todavia, a concentração média afluente de LAS no reator EGSB do presente estudo foi de  $7,35 \pm 3,76 \text{ mg L}^{-1}$ .

### 5.2.7. Caracterização Microbiana

A análise foi feita para bactérias e arqueias do lodo granular do inóculo proveniente do reator UASB usado no tratamento de água residuária da Avícola Céu Azul Alimentos da cidade de Pereira – SP e do lodo granular do reator EGSB do presente estudo. Tal análise resultou em 179.111 sequências do lodo do inóculo e 169.199 sequências do lodo EGSB para bactérias (Tabela 5.19).

Tabela 5.19 – Número de Sequências, OTUs Com e Sem Singletons, Cobertura de *Good* e Tamanhos dos Fragmentos para o Domínio Bactéria.

	<b>Lodo de Inóculo</b>	<b>Lodo EGSB</b>
<b>Número de Sequências</b>	179.111	169.199
<b>Número de OTUs* com <i>singletons</i></b>	1.249	1.228
<b>Número de OTUs* sem <i>singletons</i></b>	1.144	1.088
<b>Cobertura de <i>Good</i> (%)</b>	99,4	99,9
<b>Tamanho do Fragmento (Pares de Bases)</b>	272	271
<b>Estimador de Riqueza</b>		
<b>Chao 1</b>	1.286	1.293
<b>Índices de Diversidade</b>		
<b>Shannon (H)</b>	3,96	3,82
<b>Simpson (1-D)</b>	0,94	0,93
<b>Dominância</b>	0,06	0,07

\*Operational Taxonomic Unit

Observou-se 1.249 e 1.228 OTUs com única sequência (*singletons*) para o lodo de inóculo e lodo EGSB, respectivamente. O número de sequências sem *singletons* foram 1.144 e 1.088 para o lodo de inóculo e lodo EGSB, respectivamente. As *singletons* foram removidas para a classificação taxonômica, conforme detalhado no item 4.12.2, todavia, foram mantidas na determinação dos índices de diversidade.

O cálculo da cobertura foi feito por meio da fórmula de *Good* a qual estima-se a proporção da comunidade microbiana amplificada, podendo também ser descrita como a probabilidade de novas sequências pertencentes a OTUs já definidas. Para tanto, observou-se 99,4% para o lodo de inóculo e 99,9% para o lodo EGSB; indicativo de elevada cobertura da comunidade microbiana nas duas amostras. O tamanho do fragmento das bases foram 272 e 271 para o lodo de inóculo e do lodo EGSB, respectivamente.

Em relação ao estimador de riqueza Chao, não foi observado variação significativa de riqueza entre os lodos (1.286 e 1.293 para o lodo de inóculo e lodo EGSB, respectivamente). Tal resultado corrobora com os índices de diversidade e índice de dominância.

Por meio dos índices de diversidade Shannon (H) e Simpson (1-D), observou-se pouca variação entre os lodos. Verificou-se por meio do índice de Shannon (H), que é influenciado pela riqueza, valores de 3,96 e 3,82 para o lodo de inóculo e lodo EGSB, respectivamente; portanto, alta diversidade. Para o índice de Simpson (1-D), que é influenciado pela equitabilidade, os valores obtidos foram 0,94 (lodo de inóculo) e 0,93 (lodo EGSB), portanto elevada diversidade das biomassas.

Para o índice de dominância, sabendo que os valores variam de 0 a 1, foram observados valores de 0,06 e 0,07 para o lodo de inoculo e lodo EGSB respectivamente, indicando distribuição equânime nos lodos.

Em relação as arquéias, obteve-se 28.854 sequências para o do inóculo e 35.775 sequências do lodo do reator EGSB (Tabela 5.20).

Tabela 5.20 – Número de Sequências, OTUs Com e Sem Singletons, Cobertura de *Good* e Tamanhos dos Fragmentos para o Domínio Archaea.

	Lodo de Inóculo	Lodo EGSB
<b>Número de Sequências</b>	28.854	35.775
<b>Número de OTUs* com <i>singletons</i></b>	45	45
<b>Número de OTUs* sem <i>singletons</i></b>	43	43
<b>Cobertura de <i>Good</i> (%)</b>	99,9	99,9
<b>Tamanho do Fragmento (Pares de Bases)</b>	272	271
<b>Estimador de Riqueza</b>		
<b>Chao 1</b>	44,5	45,2
<b>Índices de Diversidade</b>		
<b>Shannon (H)</b>	1,1	1,01
<b>Simpson (1-D)</b>	0,43	0,41
<b>Dominância</b>	0,57	0,59

\*Operational Taxonomic Unit

Foi observado 45 OTUs com única sequência para o lodo de inóculo e lodo EGSB. O número de sequências sem *singletons* foram 43 para o lodo de inóculo e lodo EGSB. As *singletons* também foram removidas para a classificação taxonômica e mantidas na determinação dos índices de diversidade. A cobertura de Good foi de 99,9% para o lodo de inóculo e para o lodo EGSB, podendo ser observado elevada cobertura da comunidade microbiana em ambos lodos. O tamanho do fragmento das bases foram 272 e 271 para o lodo de inóculo e do lodo EGSB, respectivamente.

Em relação ao estimador de riqueza Chao, não foi observado variação significativa de riqueza entre os lodos (44,5 e 45,2 para o lodo de inóculo e lodo EGSB, respectivamente).

Por meio dos índices de diversidade Shannon (H) e Simpson (1-D), observou-se pouca variação entre os lodos. Verificou-se por meio do índice de Shannon (H), que é influenciado pela riqueza, valores de 1,1 e 1,01 para o lodo de inóculo e lodo EGSB, respectivamente. Tal resultado corrobora com o estimador de riqueza. Para o índice de Simpson (1-D), que é

influenciado pela equitabilidade, os valores obtidos foram 0,43 (lodo de inóculo) e 0,41 (lodo EGSB). Tal resultado corrobora com o índice de dominância.

Para o índice de dominância, sabendo que os valores variam de 0 a 1, foram observados valores de 0,06 e 0,07 para o lodo de inóculo e lodo EGSB respectivamente, indicando dominância de microrganismo. A partir dos dados da classificação taxonômica, observou-se que o gênero mais abundante foi *Thermogymnomonas* (74,32% de abundância relativa para o lodo de inóculo e 75,84% para o lodo EGSB).

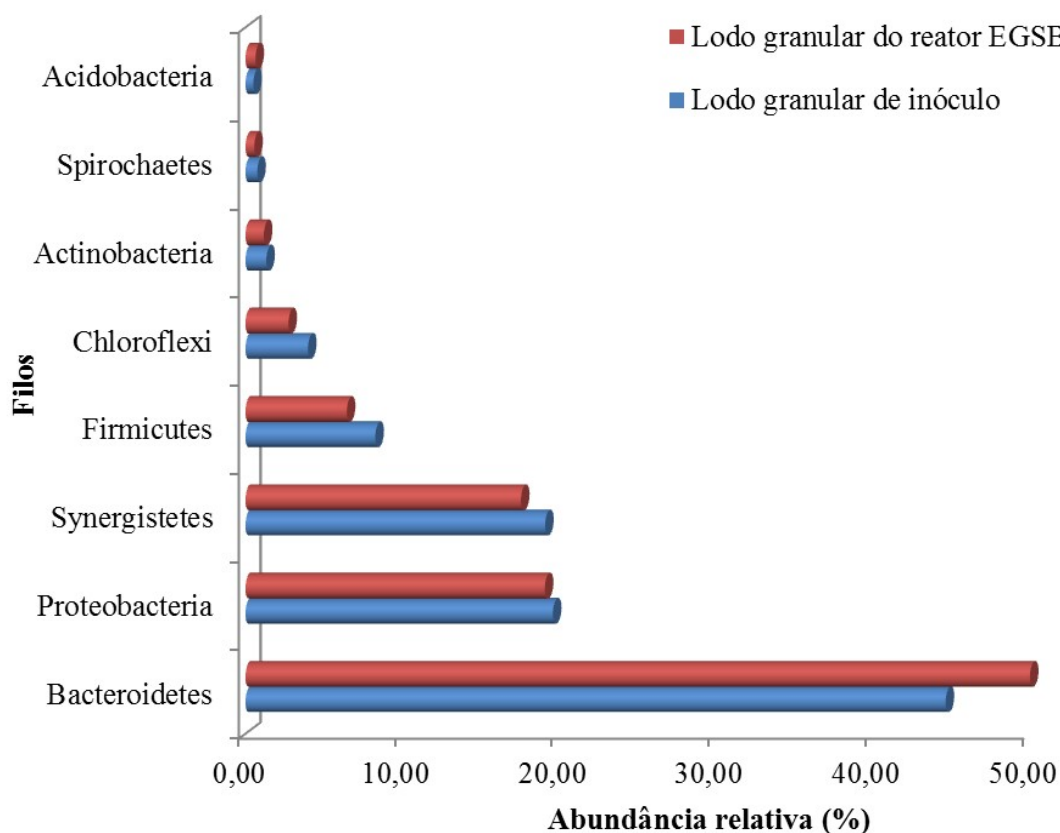
### 5.2.7.1. Domínio Bacteria

No total foram identificados 25 filos do Domínio Bacteria para o lodo do inóculo e do reator EGSB (Tabela 5.21 e Figura 5.19).

Tabela 5.21 – Filos do Domínio Bacteria e Sua Abundância Relativa das Amostras de Lodo Granular.

<b>Filo</b>	<b>Abundância relativa no lodo de inóculo (%)</b>	<b>Abundância relativa no lodo EGSB (%)</b>
<b>Bacteroidetes</b>	44,63	50,20
<b>Proteobacteria</b>	19,59	19,08
<b>Synergistetes</b>	19,10	17,56
<b>Firmicutes</b>	8,28	6,46
<b>Chloroflexi</b>	3,98	2,74
<b>Actinobacteria</b>	1,33	1,17
<b>Spirochaetes</b>	0,75	0,56
<b>Acidobacteria</b>	0,50	0,64
<b>Outros</b>	1,84	1,59

Figura 5.19 – Filos do Domínio Bacteria e Abundância Relativa das Amostras do Lodo Granular.



Fonte: Autor.

Pode-se observar que não houve diferença significativa em relação a abundância para as amostras do lodo do inóculo e lodo do reator EGSB. Entretanto, em relação ao filo Bacteroidetes obteve-se maior diferença entre a abundância relativa para o inóculo e a biomassa do reator EGSB. Observou-se para as duas amostras predominância de representantes pertencentes aos filos Bacteroidetes, Proteobacteria e Synergistetes (todos maiores que 17% de abundância relativa).

O filo *Synergistetes* foi descrito por Jumas-Bilak; Roudiere; Marchandin, (2009). As bactérias deste filo são encontradas geralmente em habitats anaeróbios, como em resíduos de sistema de tratamento de água, solos e poços de petróleo. São bacilos Gram-negativos e fermentam aminoácidos. Tal característica é comum para a maioria dos membros desse filo e pode indicar, aparentemente, que apenas os membros pertencentes a esse filo exploram esse nicho em diferentes ambientes.

Delforno et al., (2015) avaliaram a diversidade microbiana e as implicações de níveis de sulfeto em reator EGSB para degradação de LAS de águas residuárias de lavanderia. Tais



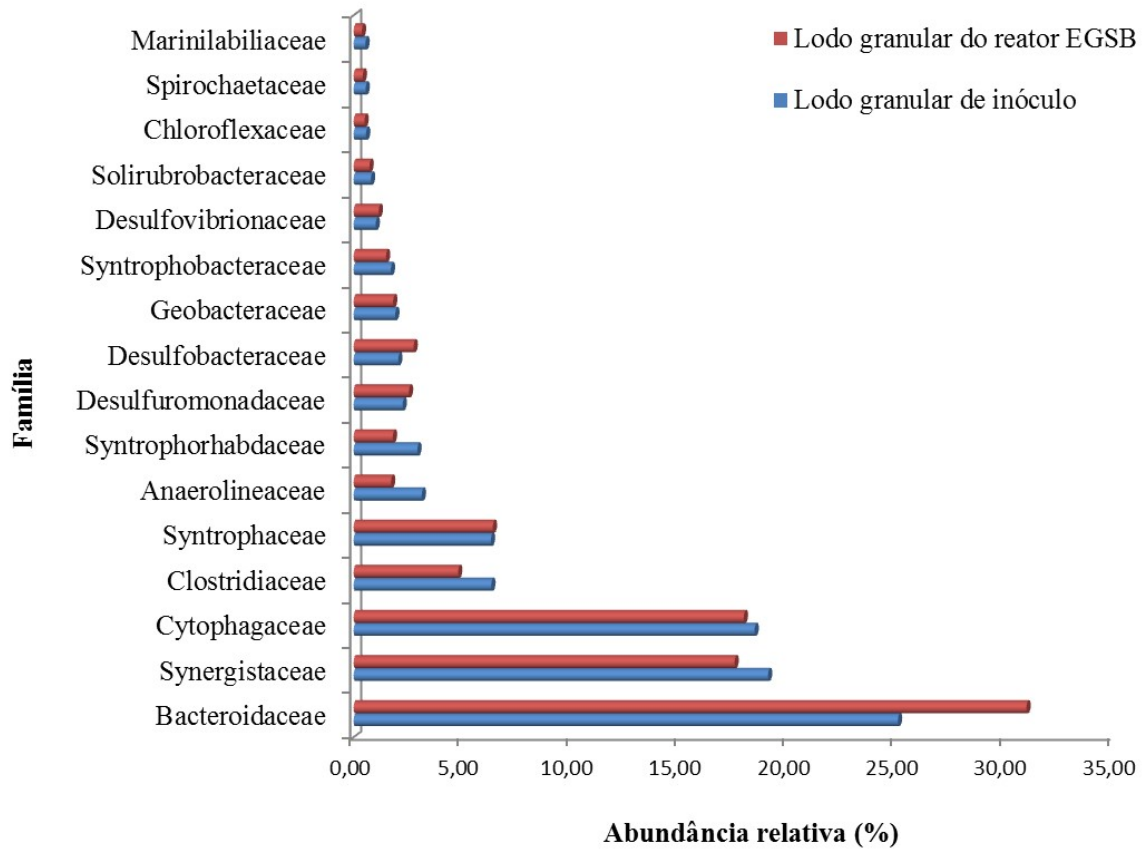
autores também observaram maiores abundâncias relativas para os representantes dos filos Bacteroidetes e Proteobacteria. Microrganismos dos filo Synergistetes, Firmicutes, Chloroflexi, Actinobacteria e Acidobacteria também foram constatados pelos autores. Braga et al., (2015b) avaliaram a comunidade microbiana de reator anaeróbio de leito fluidificado utilizado para degradação do surfactante LAS de água residuária de lavanderia. O filo Proteobacteria seguido do filo Bacteroidetes foram considerados dominantes (de maior abundância relativa). Okada et al., (2014) avaliaram a comunidade microbiana de reator UASB utilizado para remoção de LAS padrão. Os autores também observaram representantes dos filos Proteobacteria, Synergistetes, Firmicutes e Chloroflexi, enquanto houve predominância de representantes dos filos Proteobacteria, Firmicutes e Synergistetes.

Foram identificadas representantes pertencentes a 127 famílias do Domínio Bacteria (Tabela 5.22 e Figura 5.20).

Tabela 5.22 - Família Abundância Relativa do Lodo Granular.

<b>Família</b>	<b>Abundância relativa do lodo de inóculo (%)</b>	<b>Abundância relativa do lodo EGSB (%)</b>
<b>Bacteroidaceae</b>	25,09	31,01
<b>Synergistaceae</b>	19,10	17,56
<b>Cytophagaceae</b>	18,48	17,98
<b>Clostridiaceae</b>	6,35	4,82
<b>Syntrophaceae</b>	6,33	6,42
<b>Anaerolineaceae</b>	3,14	1,73
<b>Syntrophorhabdaceae</b>	2,94	1,81
<b>Desulfuromonadaceae</b>	2,26	2,55
<b>Desulfobacteraceae</b>	2,06	2,77
<b>Geobacteraceae</b>	1,92	1,82
<b>Syntrophobacteraceae</b>	1,72	1,49
<b>Desulfovibrionaceae</b>	1,02	1,16
<b>Solirubrobacteraceae</b>	0,80	0,83
<b>Chloroflexaceae</b>	0,57	0,50
<b>Spirochaetaceae</b>	0,55	0,42
<b>Marinilabiliaceae</b>	0,55	0,38
<b>Outros</b>	7,14	6,86

Figura 5.20 - Abundância Relativa das Famílias do Domínio Bacteria do Lodo Granular.



Fonte: Autor.

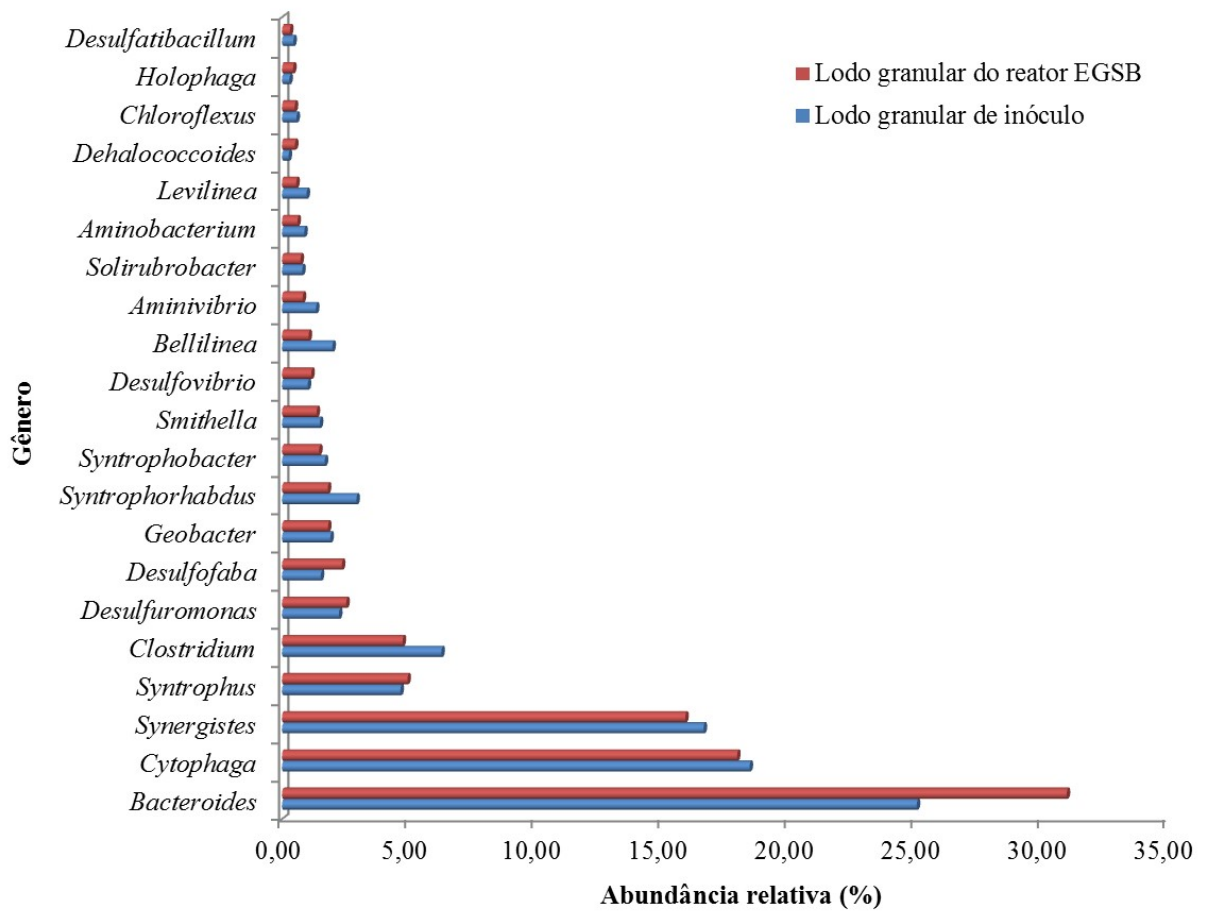
Observou-se maior abundância relativa para representantes pertencentes as Famílias Bacteroidaceae, Synergistaceae e Cytophagaceae (de 31,01% a 17,56%).

Nas amostras do lodo do inóculo e do reator EGSB foram identificados 191 gêneros do Domínio Bacteria (Tabela 5.23 e Figura 5.21).

Tabela 5.23 – Gênero do Domínio Bacteria e Abundância Relativa do Lodo Granular.

<b>Gênero</b>	<b>Abundância Relativa do lodo de inóculo (%)</b>	<b>Abundância Relativa do lodo EGSB (%)</b>
<i>Bacteroides</i>	25,09	31,01
<i>Cytophaga</i>	18,48	17,98
<i>Synergistes</i>	16,66	15,94
<i>Syntrophus</i>	4,68	4,96
<i>Clostridium</i>	6,30	4,77
<i>Desulfuromonas</i>	2,25	2,54
<i>Desulfofaba</i>	1,53	2,36
<i>Geobacter</i>	1,91	1,82
<i>Syntrophorhabdus</i>	2,94	1,81
<i>Syntrophobacter</i>	1,69	1,47
<i>Smithella</i>	1,49	1,37
<i>Desulfovibrio</i>	1,02	1,16
<i>Bellilinea</i>	1,99	1,05
<i>Aminivibrio</i>	1,34	0,82
<i>Solirubrobacter</i>	0,80	0,73
<i>Aminobacterium</i>	0,88	0,61
<i>Levilinea</i>	0,97	0,56
<i>Dehalococcoides</i>	0,26	0,51
<i>Chloroflexus</i>	0,57	0,50
<i>Holophaga</i>	0,29	0,44
<i>Desulfatibacillum</i>	0,45	0,31
<b>Outros</b>	8,30	7,22

Figura 5.21 – Gêneros do Domínio Bacteria e Abundância Relativa do Lodo Granular.



Fonte: Autor.

Os Gêneros identificados mais abundantes foram *Bacteroides*, *Cytophaga* e *Synergistes* (de 31,01% a 15,94%). Em relação aos *Bacteroides* obteve-se maior valor de abundância no lodo do reator EGSB em relação ao lodo de inóculo.

Bactérias semelhantes a *Geobacter* e *Synergistes* foram relacionadas a capacidade metabólica de realizar a  $\beta$  e  $\omega$ -oxidação, além de degradar compostos aromáticos (ALLISON et al., 1992; BRENNER et al., 2005; KUMAR et al., 2010; LARA-MARTÍN et al., 2010). Enquanto aquelas semelhantes a *Desulfovibrio* foram relacionadas a capacidade de realizar dessulfonação (BRENNER et al., 2005). *Clostridium* foi relacionado a capacidade de degradar compostos aromáticos (HSU; LUX; DRAKE, 1990). *Syntrophorhabdus* e *Holophaga* são capazes de degradar compostos aromáticos, como o fenol e hidroxibenzoato (GILBRIDE; FULTHORPE, 2004; KRIEG et al., 2010).

Delforno et al., (2015) também identificaram representantes dos gêneros *Synergistes*, *Desulfuromonas*, *Geobacter*, *Syntrophorhabdus*, *Syntrophobacter*, *Smithella*, *Desulfovibrio* e

Holophaga em reator EGSB utilizado na remoção do surfactante LAS de água residuária de lavanderia. Braga et al., (2015b) identificaram bactérias semelhantes a *Bellilinea*, *Syntrophorhabdu* e *Holophaga* em RALF utilizado para remoção de LAS de água residuária de lavanderia. Os autores relacionaram tais gêneros a degradação de LAS.

Outros gêneros identificados foram *Desulfobulbus*, *Syntrophobacter*, *Desulfomicrobium* e *Desulfomonile*, porém com menor abundância relativa. Tais bactérias estão relacionadas a redução de compostos de enxofre, como o sulfato, tiosulfato e sulfeto (VOS; GARRITY; JONES, 2011; BRENNER et al., 2005).

Dos 191 gêneros identificados, 18 foram relacionados com a degradação de LAS (Tabela 5.24) (DELFORNO et al., 2012; OKADA et al., 2013a; OKADA et al., 2014; BRAGA et al., 2015; DELFORNO et al., 2015).

Tabela 5.24 – Gêneros do Domínio Bacteria Relacionados com a Degradação do LAS e suas Respectivas Abundâncias Relativas.

<b>Gêneros</b>	<b>Abundância Relativa Lodo do Inóculo (%)</b>	<b>Abundância Relativa Lodo do Reator EGSB (%)</b>
<i>Acetobacteriu</i>	0,01	0,01
<i>Acinetobacter</i>	0,01	0,01
<i>Comamonas</i>	0,03	0,02
<i>Clostridium</i>	6,30	4,77
<i>Dechloromonas</i>	0,01	0,002
<i>Geobacter</i>	1,91	1,82
<i>Desulfovibrio</i>	1,02	1,16
<i>Desulfobulbus</i>	0,08	0,03
<i>Desulfomicrobium</i>	0,21	0,30
<i>Desulfomonile</i>	0,16	0,09
<i>Hydrogenophaga</i>	0,01	0,004
<i>Magnetospirillum</i>	0,003	0,003
<i>Pseudomonas</i>	0,01	0,01
<i>Sporomusa</i>	0,07	0,09
<i>Synergistes</i>	16,66	15,94
<i>Syntrophorhabdus</i>	2,95	1,81
<i>Syntrophus</i>	4,68	4,96
<i>Zoogloea</i>	0,02	0,02

Na Tabela 5.25 estão sintetizadas as características do gêneros relacionados a degradação do LAS.

Tabela 5.25 – Características dos Gêneros Relacionados a Degradação do LAS.

Gêneros	Degradação	Referência
<i>Acinetobacter</i>	Compostos aromáticos e dessulfonação	(COOK, 1998; BRENNER et al., 2005; ABBOUD et al., 2007)
<i>Comamonas</i>	Compostos aromáticos e dessulfonação	(COOK, 1998; SCHLEHECK et al., 2004; BRENNER et al., 2005; SCHLEHECK et al., 2010)
<i>Clostridium</i>	Compostos aromáticos	(HSU; LUX; DRAKE, 1990)
<i>Dechloromonas</i>	Tolueno	(BRENNER et al., 2005)
<i>Geobacter</i>	Fenol, Tolueno, $\beta$ e $\omega$ -oxidação	(BRENNER et al., 2005; LARA-MARTÍN et al., 2010)
<i>Desulfovibrio</i>	Compostos aromáticos e dessulfonação	(COOK, 1998; LIE; GODCHAUX; LEADBETTER, 2000; BRENNER et al., 2005)
<i>Desulfobulbus</i>	Compostos aromáticos	(BRENNER et al., 2005)
<i>Desulfomicrobium</i>	Compostos aromáticos	(BRENNER et al., 2005)
<i>Desulfomonile</i>	Compostos aromáticos	(BRENNER et al., 2005)
<i>Hydrogenophaga</i>	Compostos aromáticos e dessulfonação	(DANGMANN et al., 1996; COOK, 1998; BRENNER et al., 2005)
<i>Magnetospirillum</i>	Fenol e $\beta$ e $\omega$ -oxidação	(BRENNER et al., 2005; SHINODA et al., 2005)
<i>Pseudomonas</i>	Compostos aromáticos, $\beta$ e $\omega$ -oxidação e dessulfonação	(LODE et al, 1971; JIMENEZ et al., 1991; COOK, 1998; KERTESZ et al, 1999; STOVER et al., 2000; ALMENDARIZ et al., 2001; LARA-MARTÍN et al., 2007; MARTÍNEZ-PASCUAL et al., 2010)
<i>Sporomusa</i>	Compostos aromáticos	(VOS et al, 2009)
<i>Synergistes</i>	Compostos aromáticos, $\beta$ e $\omega$ -oxidação	(ALLISON et al., 1992; KUMAR et al., 2010)
<i>Syntrophorhabdus</i>	Compostos aromáticos	(QIU et al., 2008b; GILBRIDE; FULTHORPE, 2004)
<i>Syntrophus</i>	Compostos aromáticos	(BRENNER et al., 2005)
<i>Zoogloea</i>	Compostos aromáticos	(BRENNER et al., 2005)



A *Holophagae* pertence ao filo Acidobacteria, família Holophagaceae e tem a capacidade de fermentar trimetoxibenzoatos e trihidroxibenzenos em acetato. São Bacilos, Gram-negativo anaeróbico, mesofílicos e quimio-organotróficos (KRIEG et al., 2010). Estes microrganismos utilizam compostos metilados aromáticos, citrato e piruvato na respiração anaeróbia e fermentação homoacetogênica (LIESACK et al., 1994; COATES et al., 1999). O gênero *Holophagae* também já foi observado em estudos de tratamento de água residuária contendo LAS de água residuária de lavanderia (DELFORNO et al., 2015; BRAGA; VARESCHE, 2014; OKADA et al., 2014 e LAS padrão (OLIVEIRA et al., 2010). No presente estudo, representantes do gênero *Holophagae* foram identificados no lodo de inóculo e reator EGSB com 0,30% e 0,45% de abundância relativa, respectivamente.

*Syntrophorhabdus* pertence ao filo Proteobacteria e família Syntrophobacteraceae. São bactérias anaeróbias obrigatórias e capazes de oxidar compostos aromáticos em sintrofismo com metanogênicas hidrogenotróficas (QIU et al., 2008a). *Sporomusa* é da família Veillonellaceae, anaeróbia, homoacetogênica, Gram-negativa, formadora de endósporo e realiza reações de metoxilação de compostos aromáticos (BREZNAK; SWITZER; SEITZ, 1988). Nas amostras do lodo de inóculo e do reator EGSB do presente estudo foram identificados tais bactérias, com 2,94% e 1,81% de abundância relativa, respectivamente, para o gênero *Syntrophorhabdus* e 0,07% e 0,09%, respectivamente, para o gênero *Sporomusa*.

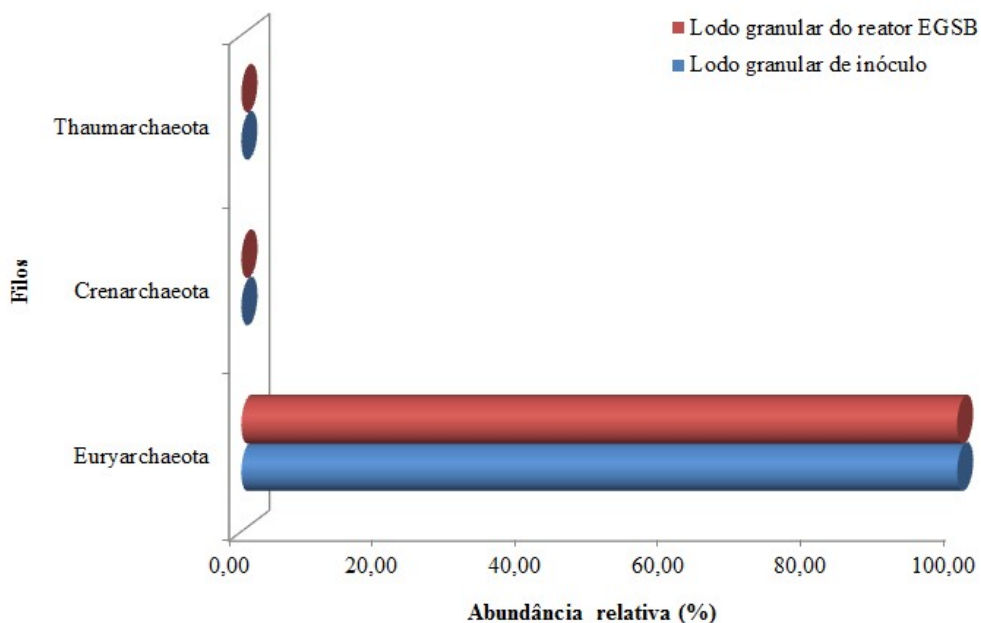
#### 5.2.7.2. Domínio Archaea

No total foram identificados 3 filios do Domínio Archaea para o lodo do inóculo e do reator EGSB (Tabela 5.26 e Figura 5.22).

Tabela 5.26 – Filios do Domínio Archaea e Abundância Relativa do Lodo Granular.

<b>Filo</b>	<b>Abundância Relativa do Lodo de Inóculo (%)</b>	<b>Abundância Relativa do Lodo EGSB (%)</b>
<b>Euryarchaeota</b>	99,99	99,97
<b>Crenarchaeota</b>	0,01	0,02
<b>Thaumarchaeota</b>	0,00	0,01

Figura 5.22 - Filos do Domínio Archaea e Abundância Relativa do Lodo Granular.



Fonte: Autor.

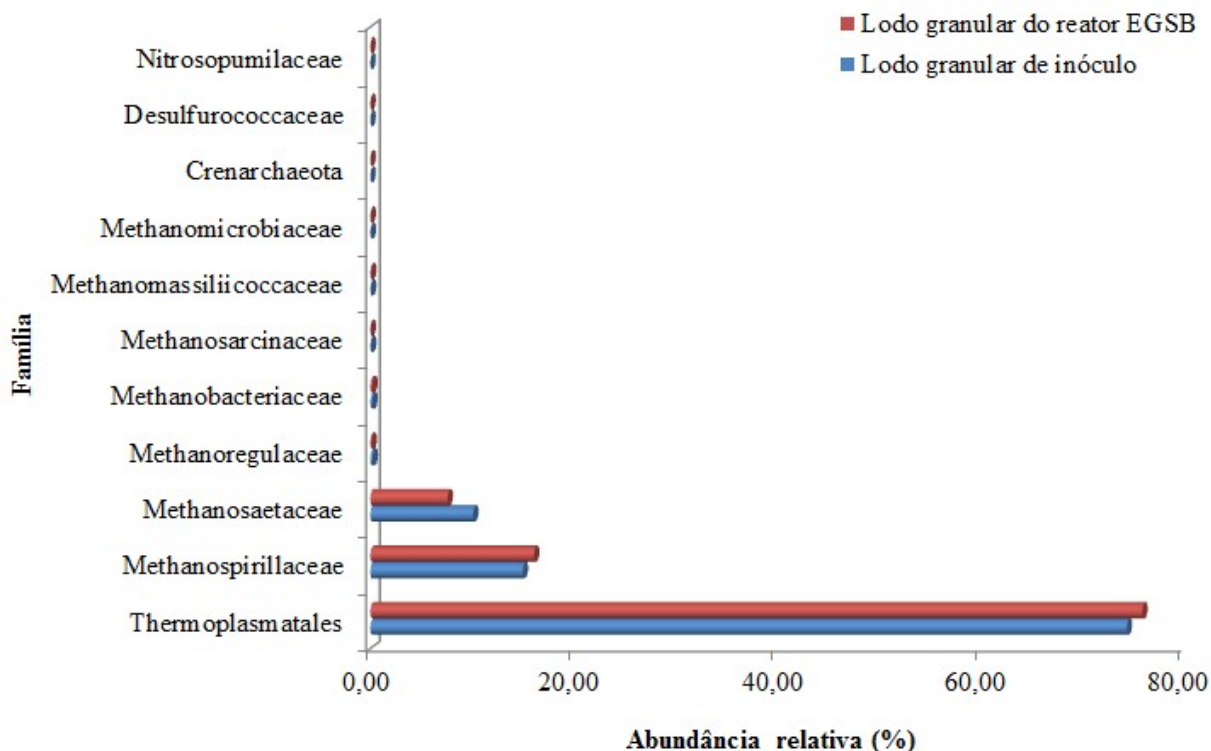
Os representantes do filo Euryarchaeota foram dominantes tanto no lodo do inóculo quanto no lodo do reator EGSB, com 99,99% e 99,97% de abundância relativa, respectivamente. Delforno et al., (2015) também identificaram representantes do filo Euryarchaeota na avaliação da comunidade microbiana de reator EGSB utilizado para remoção de LAS de água residuária de lavanderia, porém em menor proporção.

Foram identificadas representantes pertencentes a 11 famílias do Domínio Archaea (Tabela 5.27 e Figura 5.23).

Tabela 5.27 - Famílias do Domínio Archaea e Abundância Relativa do Lodo Granular.

<b>Família</b>	<b>Abundância Relativa do Lodo de Inóculo (%)</b>	<b>Abundância Relativa do Lodo EGSB (%)</b>
<b>Thermoplasmatales</b>	74,32	75,84
<b>Methanospirillaceae</b>	14,98	16,08
<b>Methanosaetaceae</b>	10,10	7,59
<b>Methanoregulaceae</b>	0,22	0,12
<b>Methanobacteriaceae</b>	0,20	0,20
<b>Methanosarcinaceae</b>	0,08	0,03
<b>Methanomassiliococcaceae</b>	0,07	0,08
<b>Methanomicrobiaceae</b>	0,03	0,03
<b>Crenarchaeota</b>	0,003	0,01
<b>Desulfurococcaceae</b>	0,003	0,01
<b>Nitrosopumilaceae</b>	-	0,01

Figura 5.23 - Famílias do Domínio Archaea e Abundância Relativa do Lodo Granular.



Fonte: Autor.

Os representantes da família Thermoplasmatales foram dominantes nas amostras do lodo do inóculo e do reator EGSB, com 74,32% e 75,84% de abundância relativa, respectivamente. Em relação aos representantes da família Methanospirillaceae e Methanosaetaceae também observou-se maior abundância relativa em comparação aos representantes das demais famílias, porém em menor proporção em comparação aqueles da família Thermoplasmatales.

A família Thermoplasmatales representa a sétima ordem das metanogênicas e todas metanogênicas pertencem ao filo Euryarchaeota. Representantes pertencentes a família Thermoplasmatales já foram identificados em vários ambientes, como habitats marinhos, solo, fezes humanas e tratos intestinais de cupins, baratas e mamíferos (PAUL et al., 2012). Os autores relataram aumento desses microrganismos no trato intestinal de cupins quando foram alimentados com xilano, um substrato que contém ácido glicurônico, e sua degradação fermentativa leva a formação de metanol.

Representantes da família Methanospirillaceae também foram identificados por outros autores que estudaram a degradação do LAS em reatores anaeróbios (BRAGA et al., 2015b; OKADA et al., 2014). Tal microbiota pertence ao filo Euryarchaeota, classe Methanomicrobia e ordem Methanosarcinales. Microrganismos da família Methanospirillaceae foram

observados em sistemas anaeróbios de tratamento de resíduos e em solos de zonas húmidas. Seu principal processo de energia é através da metanogênese hidrogenotrófica, porém algumas espécies também podem usar ácido fórmico e álcoois secundários (OREN, 2014).

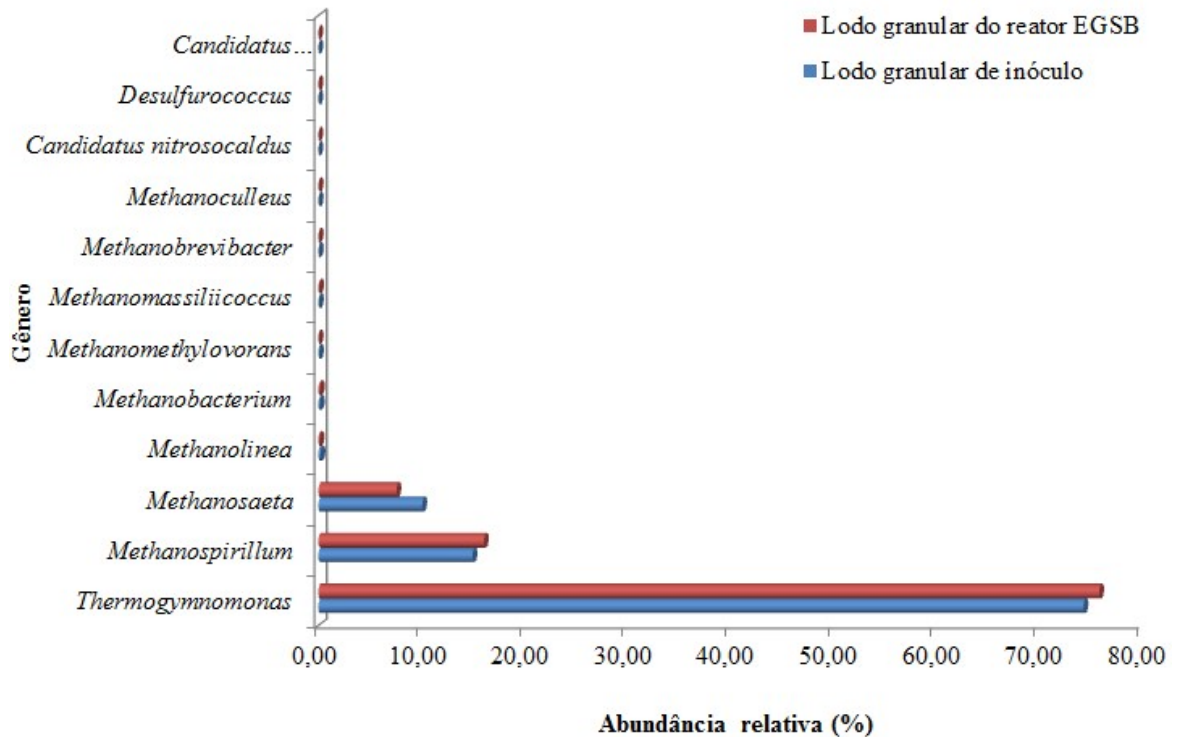
A Methanosaetaceae foi pesquisada por Karakashev et al., (2006). Os autores estudaram a população metanogênica dominante de 13 reatores anaeróbios e relataram que a conversão do ácido acético foi observada apenas na presença de representantes desta família. Representantes de tal arqueia foram observados no lodo de inóculo e reator EGSB, com 10,10% e 7,59% de abundância relativa, respectivamente, sendo a terceira família de maior abundância relativa identificada no presente estudo.

Foram identificados representantes pertencentes a 12 gêneros do Domínio Archaea (Tabela 5.28 e Figura 5.24).

Tabela 5.28 - Gêneros do Domínio Archaea e Abundância Relativa do Lodo Granular.

<b>Gênero</b>	<b>Abundância Relativa do Lodo de Inóculo (%)</b>	<b>Abundância Relativa do Lodo EGSB (%)</b>
<i>Thermogymnomonas</i>	74,32	75,84
<i>Methanospirillum</i>	14,98	16,08
<i>Methanosaeta</i>	10,10	7,59
<i>Methanolinea</i>	0,22	0,12
<i>Methanobacterium</i>	0,15	0,16
<i>Methanomethylovorans</i>	0,08	0,03
<i>Methanomassiliicoccus</i>	0,07	0,08
<i>Methanobrevibacter</i>	0,05	0,04
<i>Methanoculleus</i>	0,03	0,03
<i>Candidatus nitrosocaldus</i>	0,003	0,01
<i>Desulfurococcus</i>	0,003	0,01
<i>Candidatus nitrosoarchaeum</i>	-	0,01

Figura 5.14 - Gêneros do Domínio Archaea e Abundância Relativa do Lodo Granular.



Fonte: Autor.

Observou-se que arqueias semelhantes a *Thermogymnomonas* foram dominantes nas amostras do lodo do inóculo e do reator EGSB, com 74,32% e 75,84% de abundância relativa, respectivamente. Observou-se para *Methanospirillum* e *Methanosaeta* maior abundância relativa em relação aos demais gêneros, porém em menor proporção em comparação a *Thermogymnomonas*.

*Thermogymnomonas* utilizam glicose e manose (na presença de extrato de levedura) como fonte de carbono e energia (ITO; YOSHIKAWA; TAKASHINA, 2007). Representantes de tal gênero foram identificados em estudos de biodegradação anaeróbia de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos para remediação de sedimentos aquíferos contaminados, com possível ligação no processo de degradação do fenantreno (hidrocarboneto aromático policíclico composto de três anéis de benzeno fundidos) (ZHANG; WANG; XIE, 2012).

*Methanosaeta* representam as arqueias metanogênicas acetoclásticas e fazem parte da comunidade microbiana de grânulos de reatores UASB e EGSB. Sua duplicação de população foi descrita de 3,5 dias até 9 dias, crescendo mais lentamente que *Methanosarcina* (arqueias metanogênicas acetoclásticas e hidrogenotróficas), cuja duplicação é de aproximadamente 24 horas (GUJER; ZEHNDER, 1983; HUSER; WUHRMANN; ZEHNDER, 1982).

*Methanosaeta* utiliza exclusivamente o ácido acético como substrato para a metanogênese (ZHILINA, 1972). Este gênero também foi identificado por Okada et al., (2014), Braga et al., (2015a) e Delforno et al., (2015) em lodos de reatores anaeróbios utilizados na degradação de LAS.

*Methanospirillum* também foi identificado por Okada, (2012) e Braga et al., (2015a) em estudos para identificação microbiológica de reatores anaeróbios utilizados na remoção de LAS. Os representantes de tal gênero são Gram-negativos, anaeróbios estritos, metanogênicos e utilizam hidrogênio, dióxido de carbono e ácido fórmico como co-substrato para a produção de metano (PATEL et al., 1976).

## 6. CONCLUSÕES

- Maiores concentrações de LAS no esgoto sanitário do município de São Carlos – SP foram observadas no intervalo das 12 às 18 horas.
- Foram detectados traços de Ferro e de metais potencialmente tóxicos, como Cádmio, Chumbol, Manganês, Níquel e Zinco e de compostos recalcitrantes, como Butil Benzenosulfonamida, Ácido Hexadecanóico, Limoneno, Terpineno, Fenol, Indolizina, Caféina e Isobutil Octadecil Ftalato no esgoto sanitário da Estação de Tratamento de Esgoto de São Carlos – SP.
- Foi observado estabilidade reacional do sistema durante toda operação do reator EGSB.
- A remoção da matéria orgânica não foi afetada pela exposição ao LAS, a metais potencialmente tóxicos e a compostos recalcitrantes caracterizados no esgoto sanitário.
- Pequena porcentagem de LAS foi removida por adsorção, sendo a maior parte removida por biodegradação.
- A relação da Carga de LAS Aplicada e Removida foi de  $0,60 \pm 0,30$ , para tanto, obteve-se eficiência de remoção de LAS de  $60,37 \pm 29,84\%$ .
- Nos primeiros meses de operação do reator EGSB, a remoção do LAS foi maior em relação a média geral de operação, devido a adsorção do surfactante nos grânulos do lodo do reator.



- Não é necessário a adição de co-substratos na alimentação do reator EGSB para remoção de LAS quando o reator é alimentado com esgoto sanitário.
- Houve desestruturação dos grânulos do lodo do reator EGSB provavelmente devido a exposição da biomassa ao surfactante, a diminuição da carga orgânica volumétrica e ao fator hidráulico da expansão do leito.
- Foram identificados 18 gêneros relacionados a degradação do LAS, dentre eles os gêneros *Synergistes*, *Syntrophorhabdus*, *Syntrophus*, *Clostridium*, *Geobacter* e *Desulfovibrio* obtiveram maiores abundâncias relativas.

## **7. Sugestões para Trabalhos Futuros**

- Avaliar a influência de compostos emergentes na remoção e degradação do LAS;
- Avaliar a influência do LAS na remoção e degradação de compostos emergentes;
- Avaliar o potencial metanogênico na presença de diferentes compostos emergentes e LAS.

## 8. Referências Bibliográficas

- APHA, AWWA; WPCF. *Standart methods for the examination of water and wastewater*. 21 ed. Washington, DC: American Public Health Association, 2005.
- ABBOUD, M. M. et al. Different optimization conditions required for enhancing the biodegradation of linear alkylbenzenesulfonate and sodium dodecyl sulfate surfactants by novel consortium of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Pantoea agglomerans*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 41, n. 4, p. 432–439, 2007.
- AHRING, B. K.; SANDBERG, M.; ANGELIDAKI, I. Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digestors. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 43, n. 3, p. 559–565, jul. 1995.
- ALLISON, M. J. et al. *Synergistes jonesii*, gen.nov., sp. nov.: A Rumen Bacterium that Degrades Toxic Pyridinediols. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 16, n. 1, p. 164, abr. 1992.
- ALMENDARIZ, F. J. et al. Degradation of lineal alkylbenzene sulphonate (LAS) in an acidogenic reactor bioaugmented with a *Pseudomonas aeruginosa* (M113) strain. **Water Science and Technology**, v. 44, n. 4, 2001.
- ALVES, I. **Caracterização de Grânulos de Reator UASB Empregado no Processamento de Vinaça**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2015.
- ALVES, I. et al. **Granulometry and biological analysis of granules from a pilot scale UASB treating vinasse**. (X. D.-T. y S. L. A. en D. Anaerobia, Ed.)del Cusco: 2016
- ANDRADE, M. V. F. et al. Effects of hydraulic retention time, co-substrate and nitrogen source on laundry wastewater anionic surfactant degradation in fluidized bed reactors. **Bioresource Technology**, v. 224, p. 246–254, jan. 2017.
- ASSADI, M. M.; JAHANGIRI, M. R. Textile wastewater treatment by *Aspergillus niger*. **Desalination**, v. 141, n. 1, p. 1–6, 2001.
- BARROS, H. D. **ESTUDO DA EXPOSIÇÃO DO CONSUMIDOR AOS PLASTIFICANTES FTALATO E ADIPATO DE Di-(2-Etil-Hexila) ADICIONADOS A FILMES DE PVC, UTILIZADOS PARA ACONDICIONAMENTO DE ALIMENTOS GORDUROSOS**. [s.l.] Fundação Oswaldo Cruz, 2010.
- BELUCI, N. DE C. L.; MORAES, F. F. DE. Inclusão Molecular de Álcool Fenilético em Beta-Ciclodextrina. **Anais do III Simpósio de Bioquímica e Biotecnologia**, p. 359–362, 2013.
- BRACA, A. et al. Antioxidant activity of flavonoids from *Licania licaniaeflora*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, n. 3, p. 379–381, 2002.
- BRAGA, J. K. Caracterização microbiana e degradação de surfactante aniônico em reator anaeróbico de leito fluidificado com água residuária de lavanderia. **Escola de Engenharia de**

**São Carlos**, v. Doutorado, p. f, 2014.

BRAGA, J. K. et al. Biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate in commercial laundry wastewater by an anaerobic fluidized bed reactor. **Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering**, v. 50, n. 9, 2015a.

BRAGA, J. K. et al. Evaluation of bacterial community from anaerobic fluidized bed reactor for the removal of linear alkylbenzene sulfonate from laundry wastewater by 454-pyrosequence. **Ecological Engineering**, v. 82, p. 231–240, set. 2015b.

BRAGA, J. K.; VARESCHE, M. B. A. Commercial Laundry Water Characterisation. v. 2014, n. January, p. 8–16, 2014.

BRENNER, D. J. et al. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume Two: The Proteobacteria**. 2. ed. Michigan, USA: [s.n.].

BREZNAK, J. A.; SWITZER, J. M.; SEITZ, H.-J. *Sporomusa termitida* sp. nov., an H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>-utilizing acetogen isolated from termites. **Archives of Microbiology**, v. 150, n. 3, p. 282–288, jul. 1988.

BRITO, A. G.; MELO, L. F. **Mass transfer coefficients within anaerobic biofilms: effects of external liquid velocity** **Water Research**. [s.l: s.n.].

CAPORASO, J. G. et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. v. 7, n. 5, p. 335–336, 2011.

CAPORASO, J. G. et al. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. **The ISME Journal**, v. 6, n. 8, p. 1621–1624, 8 ago. 2012.

CAROSIA, M. F. et al. Microbial characterization and degradation of linear alkylbenzene sulfonate in an anaerobic reactor treating wastewater containing soap powder. **Bioresource Technology**, v. 167, p. 316–323, set. 2014.

CASTILHO, R. O.; KAPLAN, M. A. C. Constituintes químicos de *Licania tomentosa* Benth. (Chrysobalanaceae). **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 66–69, 2008.

CAVALCANTE, R. F.; MARINHO, G. M.; A. BARBOSA, B. C. Impactos Ambientais do Alquil benzeno Sulfonado Linear. **HOLOS**, v. 4, n. 0, p. 135, ago. 2014.

CAVALLI, L.; GELLERA, A.; LANDONE, A. LAS removal and biodegradation in a wastewater treatment plant. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 12, n. 10, p. 1777–1788, out. 1993.

CHAI, W. et al. **Non-imidazole heterocyclic histamine H<sub>3</sub> receptor antagonists** **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. [s.l: s.n.].

CHEN, T. et al. Performance of ANAMMOX-EGSB reactor. **Desalination**, v. 278, n. 1-3, p. 281–287, set. 2011.

COATES, J. D. et al. Ubiquity and diversity of dissimilatory (per)chlorate-reducing bacteria.

- Applied and environmental microbiology**, v. 65, n. 12, p. 5234–41, dez. 1999.
- COMPANY, B. & ENERGY, G. **Estudo do potencial de diversificação da indústria química brasileira**. São Paulo: [s.n.].
- COOK, A. Microbial desulfonation. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 22, n. 5, p. 399–419, dez. 1998.
- CSERHÁTI, T.; FORGÁCS, E.; OROS, G. Biological activity and environmental impact of anionic surfactants. **Environment International**, v. 28, n. 5, p. 337–348, nov. 2002.
- DAFFONCHIO, D. et al. Contact angle measurement and cell hydrophobicity of granular sludge from upflow anaerobic sludge bed reactors. **Applied and environmental microbiology**, v. 61, n. 10, p. 3676, 1995.
- DANGMANN, E. et al. Degradation of 4-aminobenzenesulfonate by a two-species bacterial coculture. **Biodegradation**, v. 7, n. 3, p. 223–229, jun. 1996.
- DE BOLLE, L. et al. Potent, selective and cell-mediated inhibition of human herpesvirus 6 at an early stage of viral replication by the non-nucleoside compound CMV423. **Biochemical Pharmacology**, v. 67, n. 2, p. 325–336, 2004.
- DE MARIA, C. A. B.; MOREIRA, R. F. A. Compostos voláteis em méis florais. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 90–96, jan. 2003.
- DE OLIVEIRA, L. L. et al. Anaerobic degradation of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) in fluidized bed reactor by microbial consortia in different support materials. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 14, p. 5112–5122, jul. 2010.
- DELFORNO, T. P. Caracterização microbiana e remoção do alquilbenzeno linear sulfonado em reator EGSB. **Universidade de São Paulo**, p. 102, 2011.
- DELFORNO, T. P. et al. Microbial characterization and removal of anionic surfactant in an expanded granular sludge bed reactor. **Bioresource Technology**, v. 107, p. 103–109, mar. 2012.
- DELFORNO, T. P. et al. Effect of biomass adaptation to the degradation of anionic surfactants in laundry wastewater using EGSB reactors. **Bioresource Technology**, v. 154, p. 114–121, fev. 2014.
- DELFORNO, T. P. et al. Microbial diversity and the implications of sulfide levels in an anaerobic reactor used to remove an anionic surfactant from laundry wastewater. **Bioresource Technology**, v. 192, p. 37–45, set. 2015.
- DICKIE, I. A. Insidious effects of sequencing errors on perceived diversity in molecular surveys. **New Phytologist Trust**, p. 916–918, 2010.
- DOMINGOS, E. et al. Monitorando a degradação da poliamida 11 (PA-11) via espectroscopia na região do infravermelho médio com transformada de fourier (FTIR). **Polímeros**, v. 23, p. 37–41, 2013.

- DUARTE, I. C. S. et al. Development of a method by HPLC to determine LAS and its application in anaerobic reactors. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 17, n. 7, p. 1360–1367, dez. 2006.
- DUARTE, I. C. S. et al. Evaluation of the microbial diversity in a horizontal-flow anaerobic immobilized biomass reactor treating linear alkylbenzene sulfonate. **Biodegradation**, v. 19, n. 3, p. 375–385, jun. 2008.
- DUARTE, I. C. S. et al. Treatment of linear alkylbenzene sulfonate in a horizontal anaerobic immobilized biomass reactor. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 2, p. 606–612, jan. 2010a.
- DUARTE, I. C. S. et al. Degradation of detergent (linear alkylbenzene sulfonate) in an anaerobic stirred sequencing-batch reactor containing granular biomass. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 64, n. 2, p. 129–134, mar. 2010b.
- DUTY, S. M. Phthalate exposure and reproductive hormones in adult men. **Human Reproduction**, v. 20, n. 3, p. 604–610, 2 fev. 2005.
- EQUIPE ECYCLE. **Ftalatos: saiba o que são, onde estão, quais os riscos e como se prevenir**. Disponível em: <<http://www.ecycle.com.br/component/content/article/67-dia-a-dia/2183-ftalato-ftalatos-plastico-maleavel-rigido-brinquedos-copos-pvc-esmalte-brilho-fixacao-cometicos-quimicos-hidratante-spray-problemas-fertilidade-masculina-reproducao-feminina-cancer-figad>>. Acesso em: 8 fev. 2017.
- FARIA, C. V. DE. **Remoção e Degradação de Alquilbenzeno Linear Sulfonado de Água Residuária de Lavanderia Diluída em Esgoto Sanitário**. [s.l.] USP - Universidade de São Paulo, 2015.
- GARCÍA GARCÍA, I. et al. Removal of phenol compounds from olive mill wastewater using *Phanerochaete chrysosporium*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* and *Geotrichum candidum*. **Process Biochemistry**, v. 35, n. 8, p. 751–758, 2000.
- GARCÍA, M. . et al. Structure–activity relationships for association of linear alkylbenzene sulfonates with activated sludge. **Chemosphere**, v. 49, n. 3, p. 279–286, out. 2002.
- GARCÍA, M. T. et al. Anaerobic digestion of linear alkyl benzene sulfonates: Biodegradation kinetics and metabolite analysis. **Chemosphere**, v. 60, n. 11, p. 1636–1643, set. 2005.
- GAVALA, H. N.; AHRING, B. K. Inhibition of the anaerobic digestion process by linear alkylbenzene sulfonates. v. 13, p. 201–209, 2002.
- GESSLER, M. C. et al. Traditional healers in Tanzania: the treatment of malaria with plant remedies. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 48, n. 3, p. 131–144, nov. 1995.
- GILBRIDE, K. A.; FULTHORPE, R. R. A survey of the composition and diversity of bacterial populations in bleached kraft pulp-mill wastewater secondary treatment systems. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 50, n. 8, p. 633–644, ago. 2004.
- GOMES, B. C. et al. Analysis of a microbial community associated with polychlorinated

biphenyl degradation in anaerobic batch reactors. **Biodegradation**, v. 25, n. 6, p. 797–810, nov. 2014.

GOUDAR, C.; STREVETT, K.; GREGO, J. Competitive Substrate Biodegradation during Surfactant-Enhanced Remediation. **Journal of Environmental Engineering**, v. 125, n. 12, p. 1142–1148, dez. 1999.

GUJER, W.; ZEHNDER, A. J. B. Conversion Processes in Anaerobic Digestion. **Water Science and Technology**, v. 15, n. 8-9, 1983.

GUNDERSEN, L.-L. et al. Indolizines as novel potent inhibitors of 15-Lipoxygenase. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 24, p. 5409–5415, 2003.

GUPTA, S. P. et al. A quantitative structure–activity relationship study on a novel class of calcium-entry blockers: 1-[4-(aminoalkoxy)phenyl]sulphonylindolizines. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 38, n. 10, p. 867–873, 2003.

HAGGENSEN, F. et al. Anaerobic treatment of sludge: Focusing on reduction of LAS concentration in sludge. **Water Science and Technology**, v. 46, n. 10, p. 159–165, 2002.

HAMMER, Ø.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. Past Palaeontological Statistics, ver. 1.89. n. 1999, p. 1–66, 2009.

HAND, V. C.; WILLIAMS, G. K. Structure-activity relationships for sorption of linear alkylbenzenesulfonates. **Environmental Science & Technology**, v. 21, n. 4, p. 370–373, abr. 1987.

HELENIUS A & SIMONS K. This Week 's Citation Classic ®. p. 18, 1975.

HESS, S. C. Interferentes Hormonais no Ambiente: Um Risco à Saúde Pública. **Engenharia Ambiental - Espírito Santo do Pinhal**, v. 7, n. 3, p. 311–329, 2010.

HSU, T.; LUX, M. F.; DRAKE, H. L. Expression of an aromatic-dependent decarboxylase which provides growth-essential CO<sub>2</sub> equivalents for the acetogenic (wood) pathway of *Clostridium thermoaceticum*. **Journal of Bacteriology**, v. 172, n. 10, p. 5901–5907, 1990.

HUBINGER, J. C. A survey of phthalate esters in consumer cosmetic products. **Journal of cosmetic science**, v. 61, n. 6, p. 457–65, 2010.

HUSER, B. A.; WUHRMANN, K.; ZEHNDER, A. J. B. *Methanotherix soehngeni* gen. nov. sp. nov., a new acetotrophic non-hydrogen-oxidizing methane bacterium. **Archives of Microbiology**, v. 132, n. 1, p. 1–9, jul. 1982.

IBARBALZ, F. M.; FIGUEROLA, E. L. M.; ERIJMAN, L. Industrial activated sludge exhibit unique bacterial community composition at high taxonomic ranks. **Water Research**, v. 47, n. 11, p. 3854–3864, jul. 2013.

ITOH, T.; YOSHIKAWA, N.; TAKASHINA, T. *Thermogymnomonas acidicola* gen. nov., sp. nov., a novel thermoacidophilic, cell wall-less archaeon in the order Thermoplasmatales, isolated from a solfataric soil in Hakone, Japan. **INTERNATIONAL JOURNAL OF**

**SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY**, v. 57, n. 11, p. 2557–2561, 1 nov. 2007.

IVANKOVIĆ, T.; HRENOVIĆ, J. Surfactants in the Environment. **Archives of Industrial Hygiene and Toxicology**, v. 61, n. 1, p. 95–110, 1 jan. 2010.

JAWORSKA, J. et al. Environmental risk assessment of phosphonates, used in domestic laundry and cleaning agents in the Netherlands. **Chemosphere**, v. 47, n. 6, p. 655–665, maio 2002.

JIMENEZ, L. et al. Mineralization of Linear Alkylbenzene Sulfonate by Aerobic Bacterial Consortium a Four-Member. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 57, n. 5, p. 1566–1569, 1991.

JORDÃO, E. P.; PESSOA, C. A. Tratamento de Esgotos Domésticos: Concepções Clássicas de Tratamentos de Esgotos. V 02. Rio de Janeiro, **Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental**, 1982.

JUMAS-BILAK, E.; ROUDIERE, L.; MARCHANDIN, H. Description of “Synergistetes” phyl. nov. and emended description of the phylum “Deferribacteres” and of the family Syntrophomonadaceae, phylum “Firmicutes”. **INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC AND EVOLUTIONARY MICROBIOLOGY**, v. 59, n. 5, p. 1028–1035, 1 maio 2009.

KARAKASHEV, D. et al. Acetate oxidation is the dominant methanogenic pathway from acetate in the absence of Methanosaetaceae. **Applied and environmental microbiology**, v. 72, n. 7, p. 5138–41, jul. 2006.

KATO, M. T. et al. Treatment of low strength soluble wastewaters in UASB reactors. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 77, n. 6, p. 679–686, jan. 1994.

KERTESZ, M. A.; SCHMIDT-LARBIG, K.; WÜEST, T. A novel reduced flavin mononucleotide-dependent methanesulfonate sulfonatase encoded by the sulfur-regulated msu operon of *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Bacteriology**, v. 181, n. 5, p. 1464–1473, 1999.

KHLEIFAT, K. M. Biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate by a two-member facultative anaerobic bacterial consortium. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 39, n. 5, p. 1030–1035, set. 2006.

KUMAR, A. G. et al. Influence of fermentation metabolites on redox potential in anaerobic digestion of proteinaceous solid wastes by *Synergistes* sp. **Engineering in Life Sciences**, v. 10, n. 4, p. 368–373, ago. 2010.

LARA-MARTÍN, P. A et al. Anaerobic Degradation of Linear Alkylbenzene Sulfonates in Coastal Marine Sediments. **Environmental Science & Technology**, v. 41, n. 10, p. 3573–3579, maio 2007.

LARA-MARTÍN, P. A. et al. Anaerobic Degradation Pathway of Linear Alkylbenzene



Sulfonates (LAS) in Sulfate-Reducing Marine Sediments. **Environmental Science & Technology**, v. 44, n. 5, p. 1670–1676, mar. 2010.

LOBNER, T. et al. Effects of process stability on anaerobic biodegradation of LAS in UASB reactors. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 89, n. 7, p. 759–765, 30 mar. 2005.

LEE, C. Modelling the kinetics of biodegradation of anionic surfactants by biofilm bacteria from polluted riverine sites: A comparison of five classes of surfactant at three sites. **Water Research**, v. 29, n. 11, p. 2491–2497, nov. 1995.

LIE, T. J.; GODCHAUX, W.; LEADBETTER, E. R. Sulfonates as Terminal Electron Acceptors for Growth of Sulfite-Reducing Bacteria (*Desulfitobacterium* spp.) and Sulfate-Reducing Bacteria: Effects of Inhibitors of Sulfidogenesis. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 6, p. 2693–2693, 1 jun. 2000.

LIESACK, W. et al. *Holophaga foetida* gen. nov., sp. nov., a new, homoacetogenic bacterium degrading methoxylated aromatic compounds. **Archives of Microbiology**, v. 162, n. 1-2, p. 85–90, jul. 1994.

LIMA DE OLIVEIRA, L. et al. Influence of support material on the immobilization of biomass for the degradation of linear alkylbenzene sulfonate in anaerobic reactors. **Journal of Environmental Management**, v. 90, n. 2, p. 1261–1268, fev. 2009.

LODE, E. T.; COON, M. J. Enzymatic  $\omega$ -Oxidation. v. 246, n. 3, 1971.

MACEDO, T. Z. et al. Treatment of laundry wastewater employing Anaerobic Fluidized Bed Reactor without feeding supplement. 2015a.

MACEDO, T. Z. et al. The comparative advantages of ethanol and sucrose as co-substrates in the degradation of an anionic surfactant: microbial community selection. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 38, n. 10, p. 1835–1844, 19 out. 2015b.

MALONNE, H.; HANUISE, J.; FONTAINE, J. Topical Anti-inflammatory Activity of New 2-(1-Indoliziny)propionic Acid Derivatives in Mice. **Pharmacy and Pharmacology Communications**, v. 4, n. 5, p. 241–243, 1998.

MARTÍNEZ-PASCUAL, E. et al. Chemical and microbial community analysis during aerobic biostimulation assays of non-sulfonated alkyl-benzene-contaminated groundwater. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 88, n. 4, p. 985–995, 17 out. 2010.

MARTINS, M. B. . et al. Caracterização anatômica e fitoquímica de folhas e rizomas de *Hedychium coronarium* J. König (Zingiberaceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 12, n. 2, p. 179–187, jun. 2010.

MIEURE, J. P. et al. Terrestrial safety assessment of linear alkylbenzene sulfonate. **Chemosphere**, v. 21, n. 1-2, p. 251–262, jan. 1990.

MIRANDA, M. M. F. S. et al. Anti-herpes simplex virus effect of a seed extract from the tropical plant *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch (Chrysobalanaceae). **Phytotherapy**, v. 9, n.

7, p. 641–645, jan. 2002.

MORITA, D. M.; SANTANA, J. M. Comparação entre o Método do Azul de Metileno e Cromatografia Líquida de Alta Pressão (HPLC) para Determinação das Concentrações de Surfactantes Aniônicos em Esgotos Sanitários. **23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Saneamento ambiental Brasileiro: Utopia ou realidade?**, p. 1–11, 2005.

MÖSCHE, M.; MEYER, U. Toxicity of linear alkylbenzene sulfonate in anaerobic digestion: influence of exposure time. **Water Research**, v. 36, n. 13, p. 3253–3260, jul. 2002.

MOURA, R. B. **Remoção de matéria orgânica e nitrogênio de esgoto sanitário em reator de leito estruturado submetido à aeração intermitente e recirculação do efluente**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2014.

MUNGRAY, A. K.; KUMAR, P. Mass balance of anionic surfactants through up-flow anaerobic sludge blanket based sewage treatment plants. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 87, n. 4, p. 254–260, jul. 2009.

NIKPAY, M.; LAZIK, D.; KREBS, P. Permeability changes by surfactant solution: an experimental study to represent wastewater loss from sewers to saturated soil. **Environmental Earth Sciences**, v. 73, n. 12, p. 8443–8450, jun. 2015.

NUNEZ, L.; MARTINEZ, B. Anaerobic treatment of slaughterhouse wastewater in an expanded granular sludge bed (EGSB) reactor. **Water Science and Technology**, v. 40, n. 8, p. 99–106, 1999.

OKADA, D. Y. et al. **Degradação de alquilbenzeno linear sulfonado em reator anaeróbio de manta de lodo e fluxo ascendente**. VI Congresso de Meio Ambiente da AUGM. **Anais...**São Carlos: 2009Disponível em: <<http://www.ambiente-augm.ufscar.br/uploads/A2-042.pdf>>

OKADA, D. Y. Degradação de surfactante aniônico em reator UASB com água residuária de lavanderia. **Escola de Engenharia de São Carlos**, v. Doutorado, 2012.

OKADA, D. Y. et al. Optimization of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) degradation in UASB reactors by varying bioavailability of LAS, hydraulic retention time and specific organic load rate. **Bioresource Technology**, v. 128, p. 125–133, jan. 2013a.

OKADA, D. Y. et al. Influence of co-substrates in the anaerobic degradation of an anionic surfactant. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 30, n. 3, p. 499–506, set. 2013b.

OKADA, D. Y. et al. Influence of volatile fatty acid concentration stability on anaerobic degradation of linear alkylbenzene sulfonate. **Journal of Environmental Management**, v. 128, p. 169–172, out. 2013c.

OKADA, D. Y. et al. Influence of volatile fatty acid concentration stability on anaerobic degradation of linear alkylbenzene sulfonate. **Journal of Environmental Management**, v. 128, p. 169–172, out. 2013d.

- OKADA, D. Y. et al. Evaluation of the microbial community of upflow anaerobic sludge blanket reactors used for the removal and degradation of linear alkylbenzene sulfonate by pyrosequencing. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 96, p. 63–70, dez. 2014.
- ONG, C. W. et al. Pyrrolizine and indolizine derivatives from 1,6-dioxo-2,4-diene by inter- and intramolecular ring closure. **Heterocycles**, v. 57, n. 7, p. 1303–1311, [s.d.].
- OREN, A. The Family Methanospirillaceae. In: **The Prokaryotes**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2014. p. 283–290.
- PATEL, G. B. et al. Characterization of a strain of *Methanospirillum hungatii*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 22, n. 9, p. 1404–1410, set. 1976.
- PAUL, K. et al. “Methanoplasmatales,” Thermoplasmatales-Related Archaea in Termite Guts and Other Environments, Are the Seventh Order of Methanogens. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, n. 23, p. 8245–8253, 1 dez. 2012.
- PENTEADO, E. D. et al. Influence of seed sludge and pretreatment method on hydrogen production in packed-bed anaerobic reactors. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 38, n. 14, p. 6137–6145, maio 2013.
- PENTEADO, J. C. P.; EL SEOUD, O. A.; CARVALHO, L. R. F. Alquilbenzeno sulfonato linear: uma abordagem ambiental e analítica. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 1038–1046, out. 2006.
- PERESSUTTI, S. R. et al. Degradation of linear alkylbenzene sulfonate by a bacterial consortium isolated from the aquatic environment of Argentina. **Journal of Applied Microbiology**, v. 105, n. 2, p. 476–484, ago. 2008.
- PIVELI, R. P. **Tratamento de Esgotos Sanitários**. Disponível em: <[www.ctec.ufal.br/professor/elca/APOSTILA - TRATAMENTO DE ESGOTOS.pdf](http://www.ctec.ufal.br/professor/elca/APOSTILA%20-%20TRATAMENTO%20DE%20ESGOTOS.pdf)>. Acesso em: 19 maio. 2017.
- PONEZI, A. N. et al. Analysis of Biodegradation of Citric Oil Compounds by GC/MSD and Analysis of the Microbial Population of an Activated Sludge Reactor in the Treatment of a Citric Wastewater. **Nova Técnica**, v. 10, p. 278–284, 2005.
- PUYOL, D. et al. Comparison of UASB and EGSB performance on the anaerobic biodegradation of 2,4-dichlorophenol. **Chemosphere**, v. 76, n. 9, p. 1192–1198, ago. 2009.
- QIU, Y.-L. et al. *Syntrophorhabdus aromaticivorans* gen. nov., sp. nov., the first cultured anaerobe capable of degrading phenol to acetate in obligate syntrophic associations with a hydrogenotrophic methanogen. **Applied and environmental microbiology**, v. 74, n. 7, p. 2051–8, abr. 2008a.
- QIU, Y.-L. et al. *Syntrophorhabdus aromaticivorans* gen. nov., sp. nov., the First Cultured Anaerobe Capable of Degrading Phenol to Acetate in Obligate Syntrophic Associations with a Hydrogenotrophic Methanogen. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 7, p.

2051–2058, 1 abr. 2008b.

REZENDE, G. R. DE. Estudo do Sub-Bacia Hidrográfica do Rio Monjolinho, São Carlos - SP, Utilizando o Modelo Matemático de Qualidade da Água QUAL-2E. **Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v. 07, n. 02, p. 166–180, 2011.

RINALDI, R. et al. Síntese de biodiesel: uma proposta contextualizada de experimento para laboratório de química geral. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1374–1380, out. 2007.

RODRIGUES, K. DE A. et al. Influência da glicose sobre o consumo de fenol por *Aspergillus niger* an 400 em reatores em batelada. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 12, n. 2, p. 222–228, jun. 2007.

RUFFO, C. et al. Biodegradation of anionic and non ionic surfactants by CO<sub>2</sub> evolution. Acclimated and non acclimated inoculum. **Rivista Italiana delle Sostanze Grasse**, v. 76, n. 6, p. 277–283, 2009.

SCHLEHECK, D. et al. Mineralization of Individual Congeners of Linear Alkylbenzenesulfonate by Defined Pairs of Heterotrophic Bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 7, p. 4053–4063, 1 jul. 2004.

SCHLEHECK, D. et al. The Missing Link in Linear Alkylbenzenesulfonate Surfactant Degradation: 4-Sulfoacetophenone as a Transient Intermediate in the Degradation of 3-(4-Sulfophenyl)Butyrate by *Comamonas testosteroni* KF-1. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 1, p. 196–202, 1 jan. 2010.

SCOTT, M. J.; JONES, M. N. The biodegradation of surfactants in the environment. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1508, n. 1-2, p. 235–251, nov. 2000.

SEGHEZZO, L. et al. A review: The anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors. **Bioresource Technology**, v. 65, n. 3, p. 175–190, set. 1998.

SHINODA, Y. et al. Anaerobic Degradation of Aromatic Compounds by *Magnetospirillum* Strains: Isolation and Degradation Genes. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 69, n. 8, p. 1483–1491, 22 jan. 2005.

SONNET, P. et al. New aromatase inhibitors. Synthesis and biological activity of aryl-substituted pyrrolizine and indolizine derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 8, n. 5, p. 945–955, 2000.

STOVER, C. K. et al. Complete Genome Sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PA01, an Opportunistic Pathogen. **Nature**, v. 406, n. 6799, p. 959–964, 21 ago. 2000.

TEKLU, S. et al. Indolizine 1-sulfonates as potent inhibitors of 15-lipoxygenase from soybeans. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 9, p. 3127–3139, 2005.

THORSTEINSSON, T. et al. Soft Antimicrobial Agents: Synthesis and Activity of Labile Environmentally Friendly Long Chain Quaternary Ammonium Compounds. **Journal of**

**Medicinal Chemistry**, v. 46, n. 19, p. 4173–4181, set. 2003.

TOLLS, J. et al. LAS Bioconcentration: Tissue Distribution and Effect of Hardness–Implications for Processes. **Environmental Science & Technology**, v. 34, n. 2, p. 304–310, jan. 2000.

TSUTIYA, M. T. **Metais Pesados: o principal fator limitante para o uso agrícola de biossólidos da estações de tratamento de esgotos** 20º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, , 2002. Disponível em:  
<[http://www.vivaterra.org.br/vivaterra\\_metas\\_pesados.htm](http://www.vivaterra.org.br/vivaterra_metas_pesados.htm)>

TUBBS, D.; FREIRE, R. B.; YOSHINAGA, S. Utilização da Cafeína como Indicador de Contaminação Das Águas Subterrâneas Por Esgotos Domésticos No Bairro De Piranema – Municípios De Seropédica E Itaguaí / RJ. **XIII Congresso Brasileiro de Águas Subterrâneas**, p. 1–9, 2004.

URIBE, S.; PENA, A. Toxicity of allelopathic monoterpene suspensions on yeast dependence on droplet size. **Journal of Chemical Ecology**, v. 16, n. 4, p. 1399–1408, abr. 1990.

VENHUIS, S. H.; MEHRVAR, M. Health effects , environmental impacts , and photochemical degradation of selected surfactants in water. **INTERNATIONAL JOURNAL OF PHOTOENERGY**, v. 06, 2004.

VIOLA, Z. DAS G. G. **Avaliação Da Qualidade Das Águas Da Bacia Do Rio Doce/MG: Caracterização Da Matéria Orgânica E Seus Impactos Ambientais**. [s.l.] Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), 2008.

VON SPERLING, M. **Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias: Introdução à Qualidade das Águas e ao Tratamento de Esgotos**. V 01, 2005.

VOS, P.; GARRITY, G.; JONES, D. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 3: The Firmicutes**. 3. ed. Georgia, USA: [s.n.].

WAGENER, S.; SCHINK, B. Anaerobic degradation of nonionic and anionic surfactants in enrichment cultures and fixed-bed reactors. **Water Research**, v. 21, n. 5, p. 615–622, maio 1987.

WESTALL, J. C. et al. Sorption of Linear Alkylbenzenesulfonates on Sediment Materials. **Environmental Science & Technology**, v. 33, n. 18, p. 3110–3118, set. 1999.

YAN, Y.-G.; TAY, J.-H. Characterisation of the granulation process during UASB start-up. **Water Research**, v. 31, n. 7, p. 1573–1580, jul. 1997.

ZHANG, S. Y.; WANG, Q. F.; XIE, S. G. Molecular characterization of phenanthrene-degrading methanogenic communities in leachate-contaminated aquifer sediment. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 9, n. 4, p. 705–712, 18 out. 2012.

ZHOU, J.; HU, Y.; HU, H. Synthesis of 5-(2-Phenylethenyl)indolizines by Selective

Intermolecular 1,3-Dipolar Cycloaddition of 2-(2-Phenylethenyl)pyridinium N-Ylide with Alkenes Promoted by Tetrakis-pyridine Cobalt(ii) Dichromate. **Journal of Chemical Research**, n. 2, p. 136–137, 1999.