PRISCILA ROSSETO CAMILOTI

RECUPERAÇÃO DE ENXOFRE ELEMENTAR A PARTIR DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS EM REATORES ANAERÓBIO/MICROAERADO

São Carlos

2015

PRISCILA ROSSETO CAMILOTI

RECUPERAÇÃO DE ENXOFRE ELEMENTAR A PARTIR DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS EM REATORES ANAERÓBIO/MICROAERADO

TESE DE DOUTORADO

Regime de Dupla Titulação

Tese apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos necessários para a obtenção de título de Doutor em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento, em regime de dupla titulação com a Universidad de La Frontera – Temuco, Chile.

Orientadores: Prof. Associado Marcelo Zaiat

Prof. Dr. David Jeison Núñes

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos

2015

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.

Camiloti, Priscila Rosseto
C183r Recuperação de enxofre elementar a partir de águas residuárias em reatores anaeróbio/microaerado / Priscila Rosseto Camiloti; orientador Marcelo Zaiat; coorientador David Jeison Núñes. São Carlos, 2015.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação e Área de Concentração em Hidráulica e Saneamento -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2015.

1. Sulfeto. 2. Enxofre Elementar. 3. Microaeração. 4. Membranas de silicone. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Engenheira **PRISCILA ROSSETTO CAMILOTI.**

Título da tese: "Recuperação de enxofre elementar a partir de águas residuárias em reatores anaeróbio/microaerado".

Data da defesa: 23/11/2015

Comissão Julgadora:	**Resultado:**
Prof. Associado **Marcelo Zaiat** **(Orientador)** (Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)	Aprovada
Prof. Dr. **David Alejandro Jeison Nuñes** (Universidad de La Frontera)	Aprovada
Prof. Dr. **Gonzalo Ruiz-Filippi** (Pontifícia Universidad Católica de Valparaíso)	Aprovada
Prof. Dr. **Ariovaldo José da Silva** (Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP)	Aprovada
Profa. Dra. **Márcia Helena Rissato Zamariolli Damianovic** (Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)	Aprovada
Prof. Dr. **Theo Syrto Octávio de Souza** (Escola Politécnica/EP-USP)	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 **Paulo César Lima Segantine**

Aos meus pais Ítalo e Suzi e irmã Silvana.

À minha avó Joana.

À minha tia Silvia Helena.

A mi hermana de alma Martina Cecília Zuñiga.

Agradecimentos

A Deus e por cada manhã.

Aos meus pais Ítalo e Suzi, por cada passo trilhado para fazer de nós pessoas melhores.
À minha irmã Silvana, principalmente por me ajudar nessa fase de defesa e casamento.
À minhas tias Silvia Helena, Sueli, Elvira, Nair e primos pelo suporte, consolo, e incansáveis conversas. À amiga Rita de Cássia, a tia "postiça".
À minha avó Joana por me ensinar o que é força e dedicação.
É à vocês que dedico cada hora de trabalho.

Ao meu futuro marido Tiago Palladino por todo amor. Meu amigo e confidente que me ensina todos os dias o que é dedicação e amor à pesquisa!
À família Palladino Delforno, que desde sempre tem me acolhido como filha. Mauro, Rosa, Jú, Má, Pedro, Evandro e Nina, vocês me ensinam todos os dias o que é compaixão e foram fundamentais, principalmente, nessa última etapa de conclusão do doutorado.

À minha família chilena "Los Zuñigas". Osvaldo, Cecília, Vicente, Seba y Martina, cada momento compartido con ustedes fueran muy felices. Ustedes me enseñaran el español y a ser una persona mejor. Mi corazón todavía está en Temuco con ustedes. Los extraño a cada minuto del dia!

Ao meu orientador Prof. Marcelo Zaiat pelas muitas formas de orientação. Serei eternamente grata por cada lição, por cada conselho e por cada conversa. Minha admiração e respeito.
Ao meu orientador David Jeison por todo o suporte em Temuco e por todo o carinho. Você, com toda certeza, é também responsável por todo o carinho que tenho por essa cidade e sua gente!
Eu não poderia ter orientadores melhores que vocês. A junção perfeita!!!

Aos alunos de iniciação científica Beatriz Lyra e Ricardo Almeida pela dedicação ao trabalho e apoio ao meu trabalho. Vocês, com toda certeza, tem um futuro brilhante pela frente.

À família Bioren. Alvaro, Juan Carlos, Leslie, Pancho, Javier, Hernán, Carolina, Rodrigo, Juan y Dana, Desde del primer día me sentí parte de la familia. Ustedes fueran fundamentales para mi trabajo y por la vivencia en chile. A Fanny por mi primer zapato calientito. Gracias a todos ustedes por todas las cervezas azulitas!!!

Aos amigos Ana Paula, Ivie, Murilo, Lênin, Lucas, Rafael (Mogi) Ricardo Takashi e Zé pelos grandes momentos em Presidente Prudente. Foram anos que certamente nos marcaram para o resto de nossas vidas. Ás meninas da república Regaçu Amanda, Dai, Milena e Susana, minhas eternas irmãs.

Aos amigos de mestrado David, Filipe, Guilherme (Piu), Leandro, Mara, Rodrigo (Dico), Victor (Madruga).

Aos mais que companheiros Ana Barana, Ana Flávia, Ari, Bruna Moraes, Djalma, Drika, Gustavo Mockaitis, Inês, Moacir, Pillar, Renata Rodrigues, Theo e Tiagão. Tudo que passamos juntos estão além das rotas metabólicas!

Aos companheiros Rafael Bazola e Dago por cada pedaço de pizza dividido!

Ao companheiro de mestrado e doutorado e amigo Eduardo Penteado. Força Duzão!

Ao companheiro e amigo Guilherme Oliveira por todos os conselhos e pela ajuda no “parto” de um artigo. Every day's a school day....

Ao amigo Freddy Valdés, meu companheiro nos dois países. Obrigada por cada minuto de trabalho. Viva Chile!!!

À minha amiga Lívia Botta por sua fofura e cada momento de doutorado e casamento compartilhado! Já sinto sua falta!

Aos amigos "panquecas” Carol, Carla, Leandro e Lucas. Os problemas se tornaram piadas e tudo ficou mais leve com vocês. Vocês são especiais, pessoas extremamente caridosas. Obrigada por sempre se lembrarem de mim na minha ausência e tampar os buracos que deixei. Leandro e Carol não desistam do enxofre!!!!

À minha amiga Rachel, você sabe o quanto tudo o que você me diz é importante. Nossas angustias são as mesmas e nos aproximaram, mas hoje quase tudo nos aproxima. Sempre estaremos ligadas de alguma forma!

A todos que de certa forma contribuíram com partes desse trabalho, seja em apoio físico ou esclarecimentos.

Ao corpo técnico e administrativo: Eloísa, Carol, Maria Angela, Isabel, Sá e Priscila.
Ao corpo técnico e família Bioren.
Ao corpo técnico Central de Análises Químicas Instrumentais (CAQI) do Instituto de Química de São Carlos pelas análises de microscopia eletrônica.
Ao corpo técnico do Laboratório de Caracterização Estrutural (LCE) do Departamento de Engenharia dos Materiais da Universidade Federal de São Carlos pelas análises de EDX.

Ao departamento de Hidráulica e Saneamento.
Ao Departamento de Recursos Naturales da Universidad de La Frontera.
À FAPESP pela bolsa concedida e apoio financeiro.

RESUMO

CAMILOTI, P.R. **Recuperação de enxofre elementar a partir de águas residuárias em reatores anaeróbio/microaerado.** 2015. 127 f. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo. São Carlos, 2015.

O objetivo desse projeto de pesquisa foi avaliar a redução do sulfato e promover a remoção do sulfeto, por via de conversão a enxofre elementar, em reatores combinados anaeróbio/microaerado. Para tanto foram utilizados três sistemas com objetivos específicos. A primeira configuração foi um reator anaeróbio de leito fixo e ordenado integrado a um reator microaerado com membrana externa (ABFSB-RME) com o qual se avaliou a influência do tempo de detenção hidráulica (TDH) e da presença de biomassa aderida na remoção do sulfeto. A segunda configuração avaliada foi um reator UASB com um reator microaerado de membrana helicoidal externa (UASB-RMHE), com o qual se avaliou a formação de biofilme no interior da membrana e a alteração do pH para a remoção do sulfeto em sua fase gasosa. A terceira configuração foi um reator anaeróbio de leito fixo e ordenado combinado a um reator microaerado com membrana helicoidal e submersa ao meio liquido (ABFSB-RMHS) com a finalidade de avaliar a remoção do sulfeto com aplicação de fluxo de ar no interior da membrana e avaliar a influência do TDH na eficiência de conversão do sulfeto. Os resultados indicam que a troca periódica das membranas tem influência na eficiência da conversão do sulfeto para o sistema ABFSB-RME. O sistema UASB-RMHE apresentou dados de remoção de sulfeto estáveis durante 35 dias, com remoção de até 90%, porém a retro lavagem da membrana é essencial para o aumento da vida útil do sistema A alteração do pH provocou a deslocamento de equilíbrio do sulfeto, e apresentou remoção do sulfeto no biogás de 98% para pH 7,5 e 50% para pH 7,0. O sistema ABFSB-RMHS propiciou remoção estável de sulfeto e a formação em camadas de enxofre elementar ao redor da membrana que se rompiam permitindo, assim, a sedimentação e recuperação do material sólido. Os resultados obtidos na pesquisa mostraram que os sistemas apresentam viabilidade e potencial no tratamento de águas ricas em compostos de enxofre e para a recuperação de enxofre elementar, além de apresentar versatilidade por meio de variáveis operacionais, com as quais se podem obter o controle e aperfeiçoamento do sistema.

Palavras chave: Sulfeto, enxofre elementar, microaeração, membranas de silicone.

RESUMEN

CAMILOTI, P.R. **Recuperación de azufre elemental de aguas residuales em reactores anaerobio/micro aireado.** 2015. 127 f. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo. São Carlos, 2015.

El objetivo de este proyecto de investigación es evaluar la reducción de sulfato y promover la eliminación de sulfuro por la conversión a través del azufre elemental en reactores combinados anaeróbicos/micro aireado. Por lo tanto, hemos utilizado tres sistemas con objetivos específicos. La primera configuración es un reactor anaerobio de lecho fijo y ordenado integrado a un reactor de membrana de silicona externa al medio liquido (ABFSB-RME) con el que evaluar la influencia del tiempo de retención hidráulico (TRH) y la presencia de la biomasa adherida a la eliminación de sulfuro. La segunda configuración evaluada era un reactor UASB combinado a un reactor micro airado con membrana externa helicoidal (UASB-RMHE), con el que se evaluó la formación de biopelículas dentro de la membrana y el cambio de pH para la eliminación de sulfuro en la fase gaseosa. La tercera realización es una combinación de un reactor anaerobio de lecho fijo y ordenado combinado a un reactor con membrana micro airado helicoidal y sumergido al medio líquido (ABFSB-RMHS) con el fin de evaluar la separación de sulfuro con flujo de aire en el interior de la membrana y evaluar la influencia del TRH en la eficiencia de eliminación de sulfuro. Los resultados indican que el intercambio periódico de las membranas tiene influencia en la eficiencia de conversión del sulfuro al sistema de ABFSB-RME. El sistema UASB-RMHE presentó eliminación de sulfuro de datos estable durante 35 días, con la eliminación de hasta 90%, pero el retro lavado de la membrana es esencial para el aumento de la vida útil del sistema. El cambio del pH provocó el desplazamiento de equilibrio del sulfuro y la eliminación de sulfuro en el biogás de 98% y 50% para pH 7,5 y pH 7,0. El sistema de eliminación de ABFSB-RMHS ha proporcionado remoción estable de sulfuro y azufre fue formado alrededor de las capas de la membrana que se formaron, que se rompieron permitiendo la sedimentación y la recuperación del material sólido. Los resultados del estudio mostraron que los sistemas son versátiles y que, por medio de las variables de funcionamiento se puede mejorar la viabilidad y el potencial que presenta en el tratamiento de agua rica en compuestos de azufre y para la recuperación de azufre elemental.

Palabras llaves: Sulfuro, azufre elemental, micro aeración, membranas de silicona.

ABSTRACT

CAMILOTI, P.R. **Elemental sulfur recovery from wastewater in anaerobic/micro-aerobic reactors.** 2015. 127 f. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo. São Carlos, 2015.

The aim of this research study is to evaluate the reduction of sulfate and promote the removal of sulfide by conversion to elemental sulfur in anaerobic/micro-aerobic reactors. Therefore, were used three reactors settings combined with specific aims. The first configuration is an anaerobic fixed-structured bed reactor integrated to a micro-aerobic with external membrane reactor (ABFSB-RME) to evaluate the influence of HRT and the presence of biomass adhered to the removal of sulfide. The second configuration evaluated was an UASB reactor with a micro-aerobic reactor with external and helically wound membrane (UASB-RMHE), in which the biofilm formation within the membrane and the change in pH for the removal of sulfide in a gaseous phase were evaluated. The third configuration was a combination of an anaerobic fixed-structured bed reactor to a micro-aerobic reactor with helically wound and submerged membrane (ABFSB-RMHS) in order to evaluate the removal of sulfide with air flow application within the membrane and to evaluate the influence of hydraulic retention time (HRT) in sulfide removal efficiency. The results indicate that the periodic exchange membranes have influence on the conversion efficiency of the sulfide to ABFSB-RME system. The UASB-RMHE system showed a stable sulfide removal efficiency for 35 days, with removal of up to 90%, but the backwashing of the membrane is essential for increasing the life of the system. The pH changing caused the equilibrium displacement of the sulfide and removal of sulfide introduced into the biogas 98% and 50% and pH 7.5 and pH 7.0. The ABFSB-RMHS removal system has provided stable sulfide removal and sulfur formed around the membrane layers were broken allowing sedimentation and recovering the solid material. The results of the study showed that the systems are versatile and which, by means of the operating variables, can be improved viability and presenting potential in the treatment of water rich in sulfur compounds and for the recovery of elemental sulfur.

Key-words: Sulfide, Elemental sulfur, micro aeration, silicon membranes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1: Ciclo do Enxofre. Fonte: Lens e Kuenen, 2001. 31
Figura 3.2: Distribuição das formas de sulfeto para diferentes valores de pH (1998). A figura também apresenta as faixas de pH ótimas para digestão anaeróbia ( ) e para a metanogênese ( ). Adaptado de Lens et al.1998. 34
Figura 3.3: Ciclo do enxofre e seus estados de oxidação. Fonte: Camiloti 2012. 35
Figura 3.4: Etapas de degradação da matéria orgânica com destaque para os ponto onde pode haver a redução do sulfato. Adaptado de Muyzer & Stams (2008) 37
Figura 3.5: (a) esquema representativo do strippng do H_2S e (b) e a separação da sulfetogênese e metanogênese. Adaptado de Lens et al. (1998). 40
Figura 3.6: Esquema representativo de um sistema de biofilme aerado em membrana. 46
Figura 4.1: Sequencia de sub-hipóteses testadas em toda etapa experimental do projeto. 50
Figura 4.2 : Esquema da estrutura experimental da pesquisa 51
Figura 4.3: Sistema Integrado ABFSB-RME: 1- Bomba peristáltica; 2- Reator anaeróbio de leito fixo e ordenado; 3- Reator microaerado; 4- Membrana de silicone; 5- Saída do efluente; 6- Saída de gás) e corte transversal da membrana indicando o fluxo de oxigênio através da mesma. 53
Figura 4.4: Esquema de corte transversal do corpo do reator mostrando a disposição das hastes de espuma de poliuretano (Mockaitis, 2011). 53
Figura 4.5: membranas tubulares de silicone comercial e corte de três membranas com diferentes diâmetros. 54
Figura 4.6: Sistema Integrado ABFSB-RME (A) em (B) detalhe da unidade microaerada (1,2 L) e da membrana tubular externa ao meio líquido e em (C) as unidades cambiáveis 55
Figura 4.7: Imobilização da biomassa no material suporte da unidade anaeróbia. 56
Figura 4.8: Sistema combinado 2 UASB-RMHE: 1- Reator UASB; 2- Bomba peristáltica; 3- Saía do efluente 4- Saída de gás; 5-Reator microaerado; 6- Membrana de silicone; 7- Reservatório de oxigênio; 8- Proveta para mensurar consumo de oxigênio. 59
Figura 4.9: Módulo para armazenamento da membrana de silicone e frasco de armazenamento de gases. No detalhe membrana de silicone antes de ser inserida no módulo. 59
Figura 4.10: Representação esquemática da formação de biofilme no interior da membrana do sistema combinado UASB-RMHE com a identificação das amostras. 61
Figura 4.11**:** Sistema combinado 3 ABFSB - RMI: 1- Bomba peristáltica; 2- Reator anaeróbio de leito fixo e ordenado; 3- Reator microaerado; 4- Membrana de silicone; 5- Saída do efluente; 6- Saída de gás); 7- entrada de ar na bomba peristáltica; 8- saída de ar da membrana; 9- coluna d'água e corte transversal da membrana indicando o fluxo de oxigênio através da mesma. 63
Figura 4.12: Sistema Combinado ABFSB-RMI. No detalhe o reator microaerado com membrana tubular de silicone interna ao meio líquido. 63
Figura 4.13: Aparato experimental para ensaio de obtenção de k_La com membrana externa e interna ao meio líquido (1- Bomba de deslocamento positivo e bomba peristáltica; 2- Sonda de oxigênio; 3- Membrana de silicone; 4- Reservatório). 65
Figura 5.1: Ajuste das curvas de concentração de OD para obtenção do K_La para a membrana de diâmetro externo de 10 mm. 70
Figura 5.2: Ajuste das curvas de concentração de OD para obtenção do K_La para a membrana de diâmetro externo de 14,6 mm. 70

Figura 5.3: Ajuste das curvas de concentração de OD para obtenção do K_La para a membrana de diâmetro externo de 17,0 mm. 70
Figura 5.4: Remoção de sulfato (○) e matéria orgânica (●) durante a operação do sistema integrado ABFSB – RME para cada TDH testado: (I) TDH de 16 h (18 amostras); (II) TDH de 18 h (12 amostras) e (III) TDH de 22,5 h (16 amostras). 75
Figura 5.5: Gráfico Box-plot da concentração de sulfeto na saída da unidade anaeróbia e microaerada do sistema integrado ABFSB – RME para cada TDH testado: (I) TDH de 16 h (18 amostras); (II) TDH de 18 h (12 amostras) e (III) TDH de 22,5 h (16 amostras). 76
Figura 5.6: Concentração de sulfeto na saída do ABFSB (○) e do RME (●) e eficiência de remoção de sulfeto (▲) para cada TDH testado: (I) TDH de 16 h (18 amostras); (II) TDH de 18 h (12 amostras) e (III) TDH de 22,5 h (16 amostras). 77
Figura 5.7: Concentração de tiossulfato (●) e porcentagem de sulfeto convertido a enxofre elementar (○) no sistema integrado ABFSB – RME para cada TDH testado: (I) TDH de 16 h (18 amostras); (II) TDH de 18 h (12 amostras) e (III) TDH de 22,5 h (16 amostras). 79
Figura 5.8: Dados do balanço final dos compostos de S do sistema integrado ABFSB – RME para cada TDH testado: (I) TDH de 16 h (18 amostras); (II) TDH de 18 h (12 amostras) e (III) TDH de 22,5 h (16 amostras). Os pontos em vermelho se referem à primeira análise após a troca da membrana. 80
Figura 5.9: Remoção de sulfato (■) e sulfeto (■) do sistema integrado e conversão de sulfeto a sulfato (■) e de sulfeto a enxofre elementar (■) na unidade microaerada. para cada TDH testado: (I) TDH de 16 h, (II) TDH de 18 h e (III) TDH de 22,5 h. 81
Figura 5.10: Porcentagem de conversão de sulfeto para cada período de troca de membrana . Conversão do sulfeto a enxofre (■), do sulfeto à sulfato (■) e remoção de sulfeto (■). 82
Figura 5.11: Membrana utilizada no sistema combinado 1 com a formação de enxofre elementar no interior da mesma em comparação a uma membrana limpa. 82
Figura 5.12: Comparação dos resultados de análise de difração de raio-x entre a amostra de enxofre comercial (—) e enxofre extraído do interios da membrana (—). Os pontos em vermelhos se referem aos picos de S^8. 83
Figura 5.13: Gráfico Box-plot da concentração de sulfeto na saída da unidade anaeróbia e microaerada do sistema integrado ABFSB – RME para a Fase II-I com a presença de material suporte inoculado e para a fase (II-II) com material suporte sem inoculação. 84
Figura5.14: Concentração de sulfeto na saída do ABFSB (●) e do RME (●). O gráfico apresenta também a concentração de tiossulfato na saída do RME (○) e a produção de sulfato na unidade microaerada (○) do sistema integrado ABFSB – RME para a Fase II-I com a presença de material suporte inoculado e para a fase (II-II) com material suporte sem inoculação. 85
Figura 5.15: Remoção de sulfato e matéria orgânica durante a operação do sistema combinado UASB-RMHE: (●) Remoção de sulfato no sistema combinado e (-○-) remoção de sulfato no reator controle (sem microaeração); (●) Remoção de DQO no sistema combinado e (-○-) e remoção de DQO para reator controle. 87
Figura 5.16: Concentrações de STD (●) e $H_2S_{(g)}$ (■) durante a operação do sistema UASB -RMHE. Em destaque o inicio da microaeração. Os pontos preenchidos se referem ao sistema microaerado (R2) e os pontos não preenchidos aos dados do reator controle (sem microaeração). As barras verticais indicam o inicio da microaeração e o início da queda de remoção. 89
Figura 5.17: Gráfico Box-plot da concentração de sulfeto total dissolvido (a) e sulfeto presente no biogás (b) para os três estágios da operação do sistema UASB-RMHE. 89
Figura 5.18: Composição do biogás transferido do interior da membrana para o módulo 90

Figura 5.19: Reator UASB e módulo para membrana de silicone. Em destaque membrana de silicone antes e depois da formação do biofilme. 92
Figura 5.20: Esquema representativo da formação de camadas no biofilme no interior da membrana. 92
Figura 5.21: Perfil da concentração de sulfeto e oxigênio dissolvido em ensaio batelada com a adição de etanol. Legenda: (●) DQO (●) STD e (●) OD. 93
Figura 5.22: Gráfico Box-plot da concentração de sulfeto total dissolvido (a) e sulfeto presente no biogás (b) para os três estágios da operação: 1- sem microaeração, 2- pH 7,5 com microaeração e (3) pH 7,0 com microaeração. 94
Figura 5.23: **(A)**: Aspecto visual da biomassa aderida a parede da membrana (nota-se as áreas brancas relacionadas a formação de enxofre - amostra SP). **(B):** Amostras da biomassa (BP) e do enxofre (SP) aderidas à parede. **(C) e (D):** Aspecto da amostra retirada do interior da membrana (amostra BI). 95
Figura 5.24: Curvas de rarefação para as duas amostras coletas na parede da membrana (B e S) e para a amostra coletada no interior da membrana. 97
Figura 5.25: Dendograma baseado no índice de Bray-Curtis para as três amostras do sistema combinado UASB-RMHE. 98
Figura 5.26: Gráficos de abundância relativa para Filo, Família e Gênero para as três amostras do sistema combinado UASB-RMHE. 99
Figura 5.27: Distribuição dos gêneros encontrados nas amostras retiradas da parede: biomassa (BP) e enxofre (SP) além da amostra retirada do interior da membrana (IB). As barras em laranja e vermelho apresentam a porcentagem do gênero em cada amostra e as barras em azul agrupam as sequências em anaeróbio, aeróbio e microaeróbio. NI: não identificado. 101
Figura 5.28: Remoção de sulfato (●) e matéria orgânica (●) durante a operação do sistema combinado ABFSB-RMHS. 103
Figura 5.29: Remoção de sulfeto durante as etapas microaeróbias do sistema combinado ABFSB-RMHS. Etapa I TDH de 5,5 h e Etapa II TDH de 8,5 h. 104
Figura 5.30: Concentrações de STD na saída do ABFSB (●) e do RMHS (●), concentração de tiossulfato (▲), de oxigênio dissolvido (X) a produção de sulfato na unidade microaerada (■). Etapa I TDH de 5,5 h e Etapa II TDH de 8,5 h. 104
Figura 5.31: Remoção de sulfeto média e concentração de sólidos para cada ciclo de sedimentação para a Etapa I TDH de 5,5 h e Etapa II TDH de 8,5 h. 105
Figura 5.32 : Imagens da membrana durante um dos ciclos de sedimentação. O ciclo durou 6 dias e as fotos se referem aos dias 1, 2 , 4 e 6 e as duas últimas imagens mostram o enxofre sedimentado. 106
Figura 5.33: Microscopia óptica comum da amostra de enxofre retirada da parede da membrana. A imagem A apresenta morfologia semelhante a bacilos e na imagem B em destaque é mostrado o possível armazenamento do enxofre pelo microrganismo. 107
Figura 5.34: Espectro EDS para as áreas analisadas das amostras retiradas ao final de cada ciclo. (A): amostra calcinada ciclo 1 , (B): amostra calcinada ciclo 2, (C) amostra calcinada ciclo 3 e (D) amostra seca ciclo 4. 108

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1: Dimensões das configurações utilizadas no sistema integrado ABFSB - RME. 55
Tabela 4.2: Composição da água residuária sintética para DQO de 500 mg.L^{-1}. 57
Tabela 4.3: Parâmetros operacionais para o sistema integrado ABFSB - RME. 57
Tabela 4.4: Dimensões das configurações utilizadas no sistema combinado UASB-RMHE. 59
Tabela 4.5: Parâmetros operacionais para o sistema combinado UASB-RMHE. 60
Tabela 4.6: Parâmetros operacionais sistema combinado 3..... 64
Tabela 4.7: Variáveis analisadas e métodos utilizados no monitoramento dos reatores. 67
Tabela 5.1: Valores dos coeficientes (K_La) para cada diâmetro externo avaliado. 69
Tabela 5.2: Valores das resistências individuais para cada vazão de líquido aplicada. 72
Tabela 5.3: Resultados médios obtidos durante o monitoramento do sistema ABFSB-RME –Etapa I 75
Tabela 5.4: Cargas e balanço dos compostos de enxofre durante a operação do sistema integrado ABFSB –RME. 78
Tabela 5.5: Resultados médios obtidos durante o monitoramento do sistema ABFSB-RME –Etapa II..... 83
Tabela 5.6: Resultados médios obtidos durante o monitoramento do sistema UASB-RMHE –Etapa I 88
Tabela 5.7: Cargas e balanço dos compostos de enxofre durante a operação do sistema combinado UASB-RMHE e reator controle. 91
Tabela 5.8: Resumo dos dados de sequenciamentos das três amostras. 96
Tabela 5.9: Resultados médios obtidos durante o monitoramento do sistema ABFSB-RMHS. 103
Tabela 5.10: Resumo dos dados de distribuição percentual do elemento S nas amostras. 108
Tabela 5.11: Cargas e balanço dos compostos de enxofre durante a operação do sistema integrado ABFSB –RMHS. 109
Tabela 5.12: Tabela comparativa entre os três sistemas utilizados. 111

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABFSB: Anaerobic bioreactor with a fixed-structured bed;

AM: arqueas metanogênicas;

BRS: bactérias redutoras de sulfato;

C*: concentração de saturação do gás no líquido; $[M].[L]^{-3}$;

CH_4: gás metano;

CO: monóxido de carbono;

CO_2: Dióxido de carbono;

C_L: Concentração do gás dissolvido; $[M].[L]^{-3}$

DQO: demanda química de oxigênio;

EDS: Energy dispersive spectroscopy;

EDX: Energy dispersive x-ray;

EGSB: Expanded granular sludge blanket;

HAIS: Horizontal flow anaerobic immobilized sludge;

H_2S: sulfeto de hidrogênio;

HS^-: sulfeto na forma iônica;

J: fluxo de massa; $[M].[L]^2.[T]^{-1}$

K_L: coeficiente global de transferência de massa; $[L].[T]^{-1}$

K_La: coeficiente volumétrico global de transferência de massa; $[T]^{-1}$

OD: oxigênio dissolvido;

MABR: Membrane aerated biofilm reactors;

pb: Pares de base;

PMDS: polydimethylsiloxane;

RALFH: Reator anaeróbio de leito fixo e horizontal;

RME: Reator de membrana externa;

RMHE: Reator de membrana helicoidal e externa;

RMHS: Reator de membrana helicoidal e submersa;

S^0: enxofre elementar;

SO_4^{-2}: íon sulfato;

SO_3^{2-}: íon sulfito;

$S_2O_3^{2-}$: íon tiossulfato;

S_x^{-2}: polissulfetos;

STV: sólidos totais voláteis;

SSV: sólidos suspensos voláteis;

STD: sulfeto total dissolvido;

TDH: Tempo de detenção hidráulica; [T]

UASB: Upflow anaerobic sludge blanket

v_s: Velocidade de escoamento no interior da membrana; [L]. $[T]^{-1}$

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 27
2 HIPÓTESES E OBJETIVOS 29
2.1 Hipótese Central 29
2.2 Objetivos 29
3 REVISÃO BIBLIOGRAFICA 31
3.1 Ciclo do enxofre 31
3.2 Alternativas de Tratamento para os compostos de enxofre 35
3.2.1 Sulfetogênese 36
3.2.2 Tratamentos para remoção do sulfeto 38
3.3 Membranas para microaeração 43
3.3.1 Sistemas de tratamento baseados no uso de membranas. 43
3.3.2 Formação de biofilme em membranas 45
3.4 Considerações finais 47
4 MATERIAIS E MÉTODOS 49
4.1 Estrutura do experimento 49
4.2 Sistema Integrado ABFSB-RME: Biorreator Anaeróbio de Leito Fixo e Ordenado (ABFSB) com membrana tubular de silicone externa ao meio líquido (RME). . 52
4.2.1 Descrição do reator 52
4.2.2 Inóculo 56
4.2.3 Água residuária 56
4.2.4 Operação do reator 57
4.3 Sistema combinado UASB-RMHE: Reator UASB combinado a Reator com membrana tubular de silicone helicoidal e externa ao meio líquido (RMHE) 58
4.3.1 Descrição do reator 58
4.3.2 Inóculo 60
4.3.3 Água residuária 60
4.3.4 Operação do reator 60
4.3.5 Testes em batelada 60
4.3.6 Caracterização microbiana 61
4.4 Sistema combinado ABFSB-RMHS: Reator de Leito Fixo e Ordenado (ABFSB) combinado a reator com membrana tubular de silicone helicoidal e submersa no meio líquido (RMHS) 62
4.4.1 Inóculo 64
4.4.2 Água residuária 64
4.4.3 Operação do reator 64
4.5 Estimativa do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (K_La) ... 64

4.6 Análises físico-químicas 66
4.7 Análise elementar e EDX 67
4.8 Microscopia 68
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 69
5.1 Membranas Tubulares de silicone: Capacidade de transferência de oxigênio 69
5.1.1 Ensaios de transferência de massa 69
5.1.2 Conclusões parciais e implicações práticas 73
5.2 Sistema Integrado ABFSB-RME: Biorreator Anaeróbio de Leito Fixo e Ordenado (ABFSB) com membranas de silicone externa ao meio líquido (RME) 74
5.2.1 Monitoramento do Sistema Integrado ABFSB – RME –Etapa I 74
5.2.2 Avaliação do efeito da presença de material suporte na unidade microaeróbia na remoção de sulfeto- Etapa II 83
5.2.3 Conclusões parciais e implicações práticas 86
5.3 Sistema combinado UASB-RMHE: Biorreator Anaeróbio de Leito Fixo e Ordenado (UASB) com membranas de silicone externa ao meio líquido (RMHE) 87
5.3.1 Monitoramento sistema combinado UASB-RMHE – Etapa I. 87
5.3.2 Efeito da alteração do pH para remoção de sulfeto no biogás – Etapa II. 93
5.3.3 Composição microbiana 95
5.3.4 Conclusões parciais e implicações práticas 101
5.4 Sistema combinado ABFSB-RMHS: Biorreator Anaeróbio de Leito Fixo e Ordenado (ABFSB) com membrana tubular de silicone helicoidal e submersa ao meio líquido (RMHS). 102
5.4.1 Monitoramento do sistema combinado 102
5.4.2 Conclusões parciais e implicações práticas 109
5.5 Comparação dos sistemas utilizados 109
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS 112
7 IMPLICAÇÕES PRÁTICAS 114
8 CONCLUSÕES 116
9 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS 117
10 REFERÊNCIAS 118

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

Um dos principais problemas encontrados em sistemas anaeróbios de tratamento de águas residuárias é a geração do sulfeto pela redução do sulfato. O sulfeto é caracterizado pelo seu mau odor, natureza corrosiva e toxicidade. Diversas alternativas para o tratamento do sulfeto na fase líquida têm sido utilizadas como, por exemplo, o processo de oxidação química com o uso de ar, ozônio, peróxido de hidrogênio e ainda processos como arraste do gás e precipitação com metais (Lens *et al.*, 1998). O tratamento do sulfeto em sua fase gasosa tem sido realizado principalmente por absorção em solução aquosa, adsorção e conversão biológica (Sublette, 1990; Syed *et al.*, 2006; Abatzoglou e Boivin, 2008).

O uso de agentes químicos para tratamento do sulfeto é o tipo de tratamento mais utilizado, entretanto, resulta na produção de resíduos, altos custos e, em muitos processos, na geração de sulfato. Um processo interessante para o tratamento do sulfeto é sua oxidação parcial a enxofre elementar, um intermediário insolúvel que pode ser separado e retirado do sistema para reúso (Janssen *et al.*, 1995). O processo de oxidação do sulfeto a enxofre elementar pode ser realizado tanto por via química (Chen e Morris, 1972) quanto por via biológica (Buisman e Lettinga, 1990; Janssen *et al.*, 1999; Alcantara *et al.*, 2004; Kleinjan *et al.*, 2005b), e tem sido reportado por trabalhos que utilizam baixas concentrações de oxigênio (Buisman e Lettinga, 1990; Janssen *et al.*, 1999; Alcantara *et al.*, 2004; Kleinjan *et al.*, 2005b). A manutenção de baixas concentrações de oxigênio no meio justifica-se pela estequiometria da reação (Gijs Kuenen, 1975), segundo a qual, com elevada concentração de oxigênio no meio, o sulfeto pode ser reoxidado a sulfato. Desta forma, o controle da transferência e da concentração de oxigênio no meio líquido é fundamental para o processo.

Trabalhos têm sido realizados com aeração em um tanque próprio com controle da concentração e posterior injeção do líquido contendo oxigênio dissolvido no reator (Janssen *et al.*, 1998; Janssen *et al.*, 1999; Alcantara *et al.*, 2004; Kleinjan *et al.*, 2005a). Essa técnica evita a turbulência no meio e permite maior controle sobre a dosagem de oxigênio no meio líquido reacional. Outra forma de aeração é a injeção direta de ar com vazão conhecida. (Buisman e Lettinga, 1990; Lohwacharin e Annachhatre, 2010).

Uma alternativa para o controle da transferência de oxigênio é a aeração por difusão do oxigênio através de membranas, como as membranas de silicone. Por sua característica no arranjo das moléculas, esse polímero tem propriedades como seletividade e permeabilidade ao

oxigênio. A aeração por sistema de membrana pode ser alternativa interessante para controle dos fluxos de transferência de oxigênio do meio gasoso para o meio líquido, permitindo um maior domínio da microaeração.

A transferência de massa por membranas tubulares tem sido estudada em diferentes sistemas de tratamento, como, para a remoção de poluentes orgânicos (Brookes e Livingston, 1995), em processos de nitrificação parcial (Cotter, 2010), e na remoção de H_2S e compostos orgânicos voláteis (Manconi e Lens, 2009). Entretanto, a utilização de membranas tubulares de silicone não foi reportada para a remoção do sulfeto e conversão a enxofre elementar.

O presente estudo conta, portanto, com a avaliação de reatores anaeróbios ligados a reatores microaerados que utilizam membranas tubulares de silicone. Os tubos de silicone comerciais permitem a microaeração do meio e a consequente conversão do sulfeto a enxofre elementar. Os sistemas utilizados na presente pesquisa se diferenciavam tanto pela disposição física dos reatores quanto pela disposição da membrana no reator microaerado. Foram utilizados sistemas integrados com as unidades anaeróbia e microaerada em um único reator e sistemas combinados com unidades sequenciais conectadas um ao outro na ordem anaeróbio-microaerado. Quanto à disposição da membrana, a mesma foi avaliada tanto externamente ao reator microaerado, com transferência de oxigênio por pressão atmosférica, quanto internamente ao meio líquido, no qual a pressão era exercida no interior da membrana tubular. Desta forma, a combinação de reatores anaeróbios e microaerados pode se constituir como alternativa técnica no tratamento de águas ricas em sulfato e o tratamento do sulfeto produzido, além da recuperação de um intermediário estável.

CAPÍTULO 2

2 HIPÓTESES E OBJETIVOS

2.1 Hipótese Central

Com base em estudos prévios (Camiloti, 2012) e no estado da arte apresentado, levantou-se a hipótese da possibilidade da remoção dos compostos de enxofre do meio líquido e gasoso em reatores combinados anaeróbio-microaerado utilizando membranas tubulares de silicone comerciais para a microaeração do meio líquido. Com base na configuração de cada sistema estudado, a hipótese central foi subdividida, a saber:

- **Sub-hipótese 1:** A alteração do diâmetro das membranas tubulares permite controle na transferência de massa e pode ser utilizada como forma de controle do sistema.
- **Sub-hipótese 2:** A integração de um reator anaeróbio a um reator microaerado que utiliza membranas tubulares de silicone promove a redução de sulfato e a conversão do sulfeto a enxofre elementar.
- **Sub-hipótese 3:** A utilização de reatores combinados com a formação de biofilme no interior da membrana favorece a remoção estável do sulfeto e a conversão biológica a enxofre elementar.
- **Sub-hipótese 4:** O sulfeto no biogás é removido pela alteração do pH do meio líquido com posterior conversão a enxofre elementar em meio líquido**.**
- **Sub-hipótese 5:**. A remoção do sulfeto é estável desde que a retirada do enxofre elementar formado seja constante. O desmembramento do sistema integrado de membrana helicoidal interna ao meio líquido em sistema combinado pode permitir a retirada e recuperação do enxofre.

2.2 Objetivos

O objetivo principal da pesquisa foi *investigar a remoção de sulfato e a conversão do sulfeto a enxofre elementar de águas residuárias utilizando reatores em condições anaeróbia e microaeróbia.* A pesquisa também teve por objetivo avaliar, para cada sistema estudado, variáveis operacionais que permitissem maior controle do sistema, os quais são elencados nos objetivos específicos, a saber:

- **Objetivo Específico 1:** Avaliar a alteração no coeficiente de transferência de massa utilizando diferentes diâmetros de membranas tubulares.
- **Objetivo Específico 2:** Avaliar a eficiência de remoção dos compostos de enxofre e a conversão do sulfeto a enxofre elementar em reator de leito fixo e ordenado (ABFSB-Anaerobic bioreator with a fixed-structured bed) integrado a um reator microaerado com membrana tubular de silicone externa ao meio líquido (RME) e avaliar parâmetros operacionais como tempo de detenção hidráulica (TDH) e presença biomassa imobilizada.
- **Objetivo Específico 3:** Avaliar a eficiência de remoção dos compostos de enxofre e a conversão do sulfeto a enxofre elementar em reator de manta de lodo e escoamento ascendente (UASB – upflow anaerobic sludge blanket) combinado a reator microaerado com membrana tubular de silicone helicoidal e externa ao meio líquido (RMHE) com a formação de biomassa no interior da membrana
- **Objetivo Específico 4:** Avaliar a influência da alteração do valor de pH do meio líquido na remoção do sulfeto da fase gasosa para posterior remoção da fase líquida por microaeração no sistema combinado UASB-RMHE.
- **Objetivo Específico 5:** Avaliar a eficiência de remoção dos compostos de enxofre e a conversão do sulfeto a enxofre elementar em reator de leito fixo e ordenado (ABFSB) combinado a reator microaerado com membrana tubular de silicone helicoidal e interna ao meio líquido (RMHS) e avaliar a influência do tempo de detenção hidráulica (TDH) na eficiência de remoção do sulfeto.

CAPÍTULO 3

3 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

"Pois quando a gente entende que não entende alguma coisa é que a gente está prestes a entender tudo..."
Jostein Gaarder (O dia do curinga)

3.1 Ciclo do enxofre

O enxofre é um elemento essencial para o crescimento de diversas formas de vida como plantas, animais e microrganismos. Na natureza, o ciclo do enxofre gera o um acúmulo do elemento em seu estado sólido, como o gesso, o enxofre elementar e os sulfetos metálicos.

Reações de oxidação e redução são as responsáveis pelas conversões do ciclo do enxofre, as quais podem ser realizadas tanto química quanto biologicamente, e são transformados segundo seu estado de oxidação, variando de -2 dos sulfetos para +6 do sulfato (Lens, P. N. L. e Kuenen, J. G., 2001). É importante ressaltar, dentro de tal ciclo, a redução dissimilativa do sulfato a sulfeto em condições anaeróbias, realizada principalmente por Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS) e a oxidação do sulfeto a enxofre elementar, entre outros intermediários, ou ainda, a sulfato, fechando assim o ciclo. (Figura 3.1).

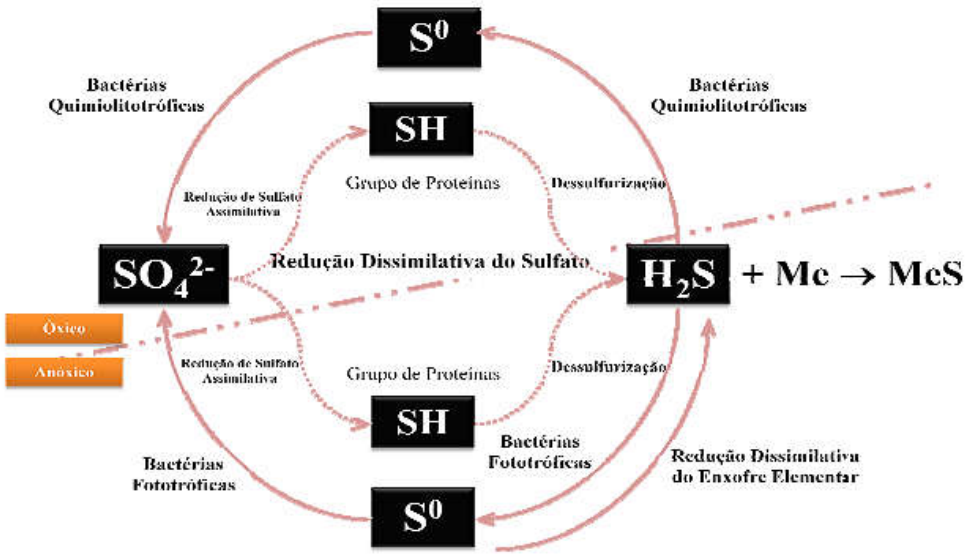

Figura 3.1: Ciclo do Enxofre. Fonte: Lens e Kuenen, 2001.

A contaminação dos corpos hídricos por compostos de enxofre pode se dar de maneira natural ou por meio de emissões antropogênicas. De forma natural, a contaminação pode ocorrer pela percolação das águas pluviais, que podem carrear sais de sulfato e também precipitados metálicos de sulfeto, além da deposição ácida dos compostos de enxofre presentes na atmosfera por meio das chuvas ácidas. As emissões antropogênicas são realizadas por meio do descarte de águas contaminadas por compostos de enxofre nos corpos hídricos, além da contribuição das emissões atmosféricas, contribuindo para o aumento de compostos ácidos na atmosfera.

Segundo Lens et al. (1998), o íon sulfato (SO_4^{2-}) é a forma mais difundida e mais estável dos compostos de enxofre e pode ser encontrado na natureza na forma de depósitos sedimentares (como exemplo o gesso), nos sedimentos marinhos e água do mar. As emissões antropogênicas estão relacionadas ao descarte de efluentes domésticos e industriais. A concentração de sulfato em efluentes domésticos pode variar entre 20 a 500 $mg.L^{-1}$ e descartes industriais podem variar muito dependendo da origem e do processo, a exemplo as plantas de processamento de papel, que podem apresentar concentrações de 50 a 3000 $mg.L^{-1}$ (Lens *et al.*, 1998).

Os impactos causados pelo sulfato dependem de sua forma de emissão e da localidade, mas estão ligados ao solo e aos corpos hídricos, onde o íon pode provocar acidez e solubilizar metais pesados. O controle das concentrações de sulfato em águas de abastecimento é importante, já que causa efeitos laxativos e pode causar incrustações em tubulações industriais. Desta forma, o padrão de potabilidade é fixado em 250 $mg.L^{-1}$ (Brasil, 2004). Já para águas resíduárias, a remoção do sulfato deve ser realizada para diminuir as concentrações do íon e evitar danos econômicos, como a corrosão de tubulações pela formação de ácido sulfúrico no interior das mesmas, além de evitar o desbalanceamento no ciclo biogeoquímico.

Dentre as indústrias que são responsáveis pela emissão de sulfato em corpos hídricos, estão as de papel, alimentos, explosivos e as que utilizam águas contendo sulfato, como a água do mar, das águas de drenagem das atividades de mineração como fontes de emissão de sulfato. Na indústria de papel, a utilização de ácidos gera resíduos com concentrações de sulfato que podem variar dependendo do processo utilizado. Já a indústria alimentícia tem como principal contaminante os processos fermentativos e os de processamento de alimentos marinhos (2,1 a 2,7 $gSO_4^{-2}.L^{-1}$). Um caso bastante próximo da realidade brasileira são as plantas de produção de etanol, que podem gerar vinhaça de 2,3 a 7,0 $gSO_4^{-2}.L^{-1}$, dependendo da matéria prima e da época da safra (Fuess, 2013).

Outro íon de destaque no ciclo do enxofre é a forma reduzida do íon sulfato. O sulfeto é encontrado e distribuído nas formas S^{2-}, HS^- (formas ionizadas), H_2S (sulfeto de hidrogênio) e sulfetos metálicos. A distribuição destes acontece de acordo com o equilíbrio físico-químico em função do pH (Figura 3.2). A forma S^{2-} é mais estável em pH alcalino e as concentrações de H_2S representam menos de 20% do sulfeto total na faixa de 7,5 a 9. Quando em solução, o equilíbrio é regido pela seguinte reação (Lens *et al.*, 1998):

$$H_2S_{(aq)} \rightleftharpoons HS^-_{(aq)} + H^+ \rightleftharpoons S^{2-}_{(aq)}) + H_2 \qquad (3.1)$$

As fontes antropogênicas de emissão de sulfeto estão ligadas a descartes industriais como efluentes de curtumes, indústria petroquímica, indústria têxtil, entre outras (Janssen *et al.*, 1995). Entretanto, uma das formas mais difundidas da produção de sulfeto são os reatores anaeróbios, quando aplicados ao tratamento de águas residuárias contendo sulfato. O sulfato, em condição anaeróbia, é reduzido a sulfeto, o qual é considerado um grande problema nas estações de tratamento.

O tratamento de águas com altas concentrações de sulfeto é de extrema importância, não só pelo desbalanceamento do ciclo causado pelo seu lançamento no ambiente, mas por acarretar impactos no setor econômico e social. O sulfeto tem por característica mau odor, caráter corrosivo, alta demanda por oxigênio e é prejudicial à saúde humana, principalmente ao sistema respiratório e nervoso. (Lens, P. N. L. e Kuenen, J. G., 2001; Lloyd, 2006). O principal impacto econômico relacionado à emissão do sulfeto é a corrosão das tubulações das estações de tratamento. A exposição de operadores também é de relevante importância, já que o odor é somente perceptível em concentrações baixas (0,01 a 1,5 ppm). Para concentrações de 2,5 a 100 ppm alguns sintomas como náusea, fadiga e perda de memória podem ocorrer. Entretanto, para concentrações superiores a 100 ppm a paralisia olfativa pode ocorrer e em concentrações na faixa de 400 a 700 ppm, com tempo de exposição de até 30 minutos, a perda de consciência pode ocorrer e até mesmo levar o indivíduo à morte (Niosh, 2014).

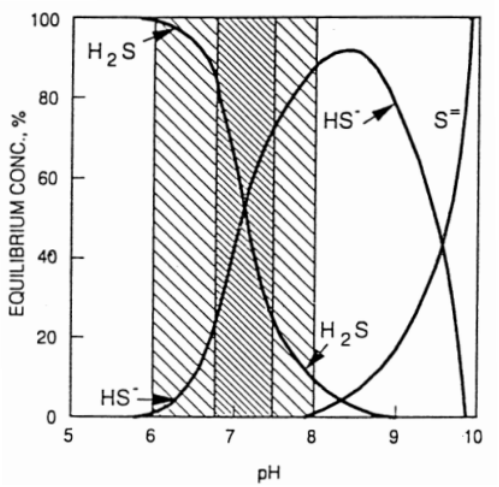

Figura 3.2: Distribuição das formas de sulfeto para diferentes valores de pH (1998). A figura também apresenta as faixas de pH ótimas para digestão anaeróbia ( ) e para a metanogênese ( ). Adaptado de Lens et al.1998.

Os compostos do enxofre compreendem ainda outros íons, como sulfito (SO_3^{-2}) e tiossulfato ($S_2O_3^{-2}$), os quais podem ser resultados da oxidação do sulfeto. A Figura 3.3 apresenta o ciclo completo do enxofre com seus estados de oxidação. Destacam-se, também, na Figura 3.3 os polissulfetos, os quais são formados pela interação entre enxofre e soluções aquosas de sulfeto (Eq. 3.2). Hartler et al. (1967) relataram que a formação dos polissulfetos tem um efeito catalítico na velocidade de dissolução do enxofre. Desta forma, o produto de uma reação é o reagente da próxima (Eq. 3.3 a 3.6).

$$HS^- + S = S_2^{2-} \quad (3.3)$$

$$S_2^{2-} + S = S_3^{2-} \quad (3.4)$$

$$S_3^{2-} + S = S_4^{2-} \quad (3.5)$$

$$S_4^{2-} + S = S_5^{2-} \quad (3.6)$$

As espécies de polissulfetos são representadas na forma S_x^{2-}, na qual o índice *x* se encontra entre 2 e 5. Nas soluções aquosas, os polissulfetos de índice 4 e 5 podem ser mensurados, enquanto as espécies de índice 2 e 3 são instáveis ou se encontram em baixas concentrações Segundo Chen & Morris (1972), a concentração de enxofre elementar dissolvido em pH próximo a 6,0 é maior que a de polissulfetos, e este pode ser negligenciado. Em soluções próximas a neutralidade, a concentração de enxofre em forma de polissulfetos representa uma fração significante do enxofre total dissolvido e, em pH igual a 8,0, o enxofre, em forma de polissulfetos, é dominante. O estado do enxofre também influencia nas reações, já que em solução a sua reação com o sulfeto é mais rápida se comparada com o enxofre no seu estado coloidal ou na forma de partículas.

Chen & Morris (1972) relataram a formação visual dos polissulfetos e observaram que, se cristais de sulfeto forem adicionados em água contendo oxigênio dissolvido em faixa de pH entre 6,0 e 9,0, uma coloração verde-amarelada começa a se formar e, em seguida, uma coloração esbranquiçada toma seu lugar, formando, assim, uma suspensão coloidal de enxofre elementar. Alguns autores também relataram a formação visual de polissulfetos pela alteração de cor da solução. Camiloti (2012) observou, em ensaios em batelada, a coloração do meio de tom verde-amarelado e posteriormente esbranquiçado, geralmente após o total consumo do sulfeto. Buisman et al. (1989) e Janssen et al. (1995) também observaram a mudança na coloração e relacionaram a coloração verde-amarelada com a formação de polissulfetos, principalmente tetra e pentassulfetos, e o esbranquiçamento do meio com a formação de enxofre elementar.

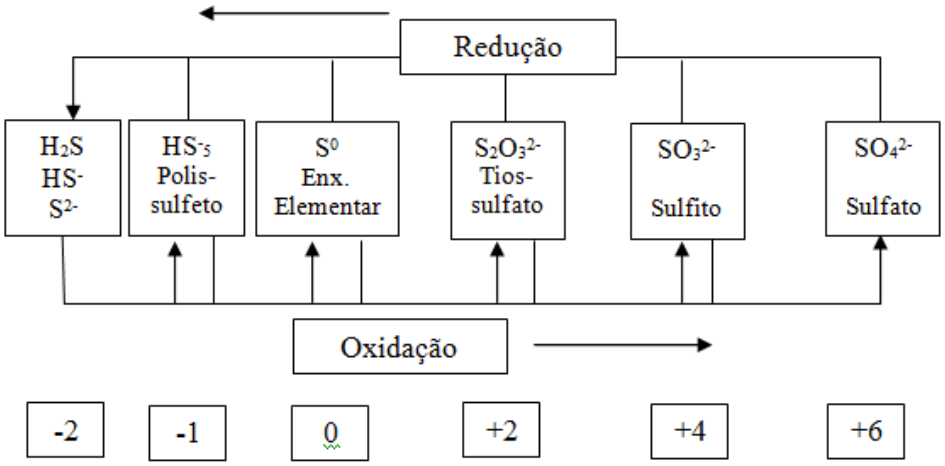

Figura 3.3: Ciclo do enxofre e seus estados de oxidação. Fonte: Camiloti 2012.

3.2 **Alternativas de Tratamento para os compostos de enxofre**

Nas últimas décadas, atenção especial tem sido dada a estratégias tecnológicas para remoção de nutrientes como nitrogênio e fósforo. Entretanto, comparado aos demais ciclos, os distúrbios ambientais causados pela alteração do ciclo do enxofre têm recebido menor atenção.

Alguns problemas ambientais podem ocorrer quando há um distúrbio no ciclo do enxofre. O aumento das atividades antropogênicas pode causar diversos distúrbios no ciclo natural, levando a efeitos adversos como poluição da água, acidificação, lixiviação de metais tóxicos e concentrações elevadas de sulfato e de sulfeto, o qual apresenta características tóxicas e corrosivas. Outros tipos, não menos importantes, de efeitos decorrentes da alteração

do ciclo são a emissão de compostos voláteis de enxofre (SO_2 e H_2S) e a poluição dos solos e sedimentos por metais pesados.

Dentre as formas de controle de poluição por compostos de enxofre destacam-se as alternativas biotecnológicas, nas quais são utilizados diversos grupos de bactérias que utilizam os compostos de enxofre em seu metabolismo, como as Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS), bactérias fototróficas e bactérias especializadas em utilizar compostos reduzidos de enxofre, como espécies do gênero *Thiobacilli*. A seguir são descritos os principais tipos de tratamento para os principais compostos de enxofre.

3.2.1 *Sulfetogênese*

Por muitos anos a presença de sulfato em águas resíduárias foi tida como inconveniente no tratamento anaeróbio devido a produção de sulfeto, o qual pode causar vários problemas devido sua toxicidade, mal odor, corrosividade, aumento da demanda química de oxigênio e qualidade do biogás (Lens, P. N. L. e Kuenen, J. G., 2001), além de outros fatores como a competição das bactérias pelo substrato. Parte da rejeição dos processos anaeróbios, principalmente no Brasil, é devido aos projetos de plantas nas quais não se prevê a vedação do sistema ou o posterior tratamento do sulfeto produzido.

A remoção do sulfato é realizada por meio de um processo conhecido como processo sulfetogênico. Nesse processo, as Bactérias Redutoras de Sulfato (BRS) utilizam o íon como aceptor final de elétrons, desviando a rota metabólica da produção do metano para a produção de sulfeto, impondo assim a coexistência de BRS e arqueias metanogênicas (AM) e a competição entre elas pelos substratos, especialmente acetato e hidrogênio. A Figura 3.4 ilustra as rotas metabólicas de degradação de moléculas orgânicas complexas quando o sulfato está presente como receptor de elétrons.

Entretanto, as BRS são microrganismos extremamente versáteis, e mesmo na ausência de sulfato, podem sobreviver atuando na hidrólise dos compostos orgânicos complexos. Além disso, as BRS possuem a capacidade de metabolizar uma grande variedade de compostos intermediários do processo de mineralização anaeróbia, desde hidrogênio, acetato, propionato, lactato, álcoois, açúcares, compostos aromáticos, entre outros (Colleran *et al.*, 1995), diferentemente da rota metanogênica, que utiliza um limitado número de substratos, como o acetato e o hidrogênio (Bock *et al.*, 1994). As principais bactérias envolvidas incluem os Gêneros *Desulfovibrio, Desulfomicrobium, Desulfobotulus, Desulfofustis, Desulfotomaculum, Desulfobulbus, Desulfobacter, Desulfobacterium, Desulfococcus, Desulfonema, Desulfosarcina, Desulfarculus, Desulfacinum, Desulforhabdus* e *Thermodesulforhabdus.*

(MADIGAN, 2010). Além da versatilidade desses microrganismos, a redução do sulfato também independe da pressão parcial do hidrogênio, diferentemente da rota metanogênica (Lens *et al.*, 1998). Tais fatores tornam os sistemas sulfetogênicos menos sensíveis às alterações do meio. Desta forma, a sulfetogênese pode ser vista como aliada na remoção de compostos orgânicos, já que é possível realizar o tratamento de água residuárias ricas em sulfato de forma integrada com a produção de metano, no qual a matéria orgânica é removida pelos dois processos: sulfetogênico e metanogênico.

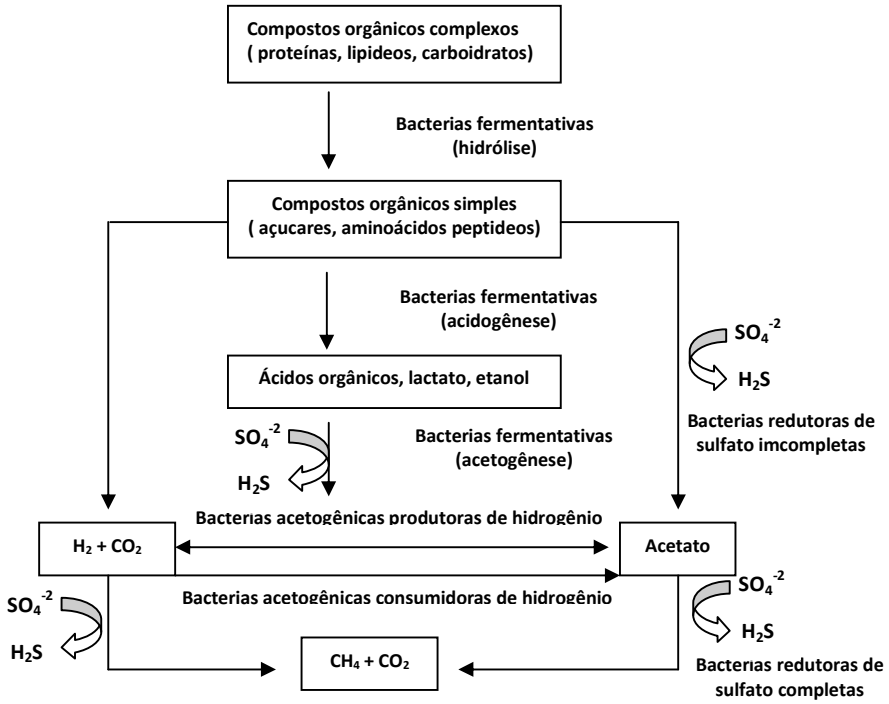

Figura 3.4: Etapas de degradação da matéria orgânica com destaque para os ponto onde pode haver a redução do sulfato. Adaptado de Muyzer & Stams (2008)

O tratamento de águas residuárias ricas em sulfato tem sido estudado em algumas configurações de biorreatores anaeróbios, como os operados em bateladas sequenciais, UASB (upflow anaerobic sludge blanket), leito expandido (EGSB - expanded granular sludge blanket) (Janssen *et al.*, 1997), leito fixo e ordenado (Camiloti *et al.*, 2013; Mockaitis *et al.*, 2014), entre outros. O Laboratório de Processos Biológicos (LPB-EESC-USP) tem sido um grande expoente no tratamento de águas ricas em sulfato, onde diferentes configurações e diferentes águas residuárias têm sido estudadas. A imobilização dos microrganismos foi estudada em um reator de leito horizontal (Horizontal-flow anaerobic immobilized sludge - HAIS) para tratamento de águas residuárias da indústria de papel e concluiu-se que a espuma de poliuretano foi adequada para a imobilização e a remoção de matéria orgânica e sulfato no

reator foram satisfatórias (>80%) (Foresti *et al.*, 1995). A competição entre BRS e arqueias metanogênicas (AM) também foi estudada nessa configuração (Damianovic e Foresti, 2009). Silva et al (2002) estudaram a remoção de sulfato em um reator de leito fixo utilizando espumas de poliuretano e observaram 97% na remoção de sulfato de águas residuárias da produção de peróxidos orgânicos. Reatores operados em bateladas sequenciais com biomassa imobilizada (ASBBR) também foram utilizados no tratamento de águas com altas concentrações de sulfato (0,25 a 3,0 $g.L^{-1}$) e foi verificado até 99% de remoção de sulfato (Sarti, 2011). A interferência do sulfato no tratamento da vinhaça para a produção de metano também foi estudada em reator de leito fixo e ordenado (Godoi, 2014).

O tratamento de águas residuárias em biorreatores gera ecossistemas complexos, nos quais ocorre a competição entre AM e BRS pelos compostos produzidos. Alguns parâmetros, como relação DQO/SO_4^{-2}, podem determinar a proporção entre metano e sulfeto de hidrogênio produzidos. O parâmetro DQO/SO_4^{-2} também foi estudado em diferentes configurações de reatores (Damianovic, 2007; Camiloti *et al.*, 2013) e relações ótimas para cada configuração foram obtidas. Trabalhos com o tratamento de águas de drenagem ácida também foram realizados. O tratamento de águas de drenagem ácida por meio da redução do sulfato foi estudado em um reator UASB (Rodriguez *et al.*, 2012) e em um reator de leito horizontal (RAHLF) (Rodriguez, 2010) e teve por diferencial a operação dos reatores sem tratamento prévio da água residuária. A remoção do sulfato aliado à remoção de metais também foi estudada, como a remoção de cádmio e cobre em reatores de leito fixo e ordenado (Mockaitis, 2011).

De maneira geral, as pesquisas realizadas no Laboratório de Processos Biológicos tem sido realizadas a fim de conhecer os fundamentos e aperfeiçoar, por meio do estudo de diferentes configurações, parâmetros e variáveis operacionais, a remoção do sulfato e produção de metano. Como pôde ser observado, a remoção de sulfato tem sido obtida juntamente com a degradação de outros compostos, além da recuperação de produtos. Desta forma, a sulfetogênese para tratamento de águas rica em sulfato pode ser vista de maneira positiva se aliada também à remoção do sulfeto produzido.

3.2.2 *Tratamentos para remoção do sulfeto*

Como já relatado, a remoção do sulfeto de águas residuárias se faz necessária devido a sua toxicidade e efeitos deletérios, principalmente à saúde humana. As emissões de sulfeto estão ligadas a descartes industriais, como, efluentes de curtumes, indústria petroquímica, indústria têxtil, entre outras (Janssen *et al.*, 1999). Quanto à produção de sulfeto em sistemas

anaeróbios para o tratamento de águas residuárias ricas em sulfato, além dos efeitos nocivos já enumerados anteriormente, pode-se destacar o efeito tóxico do sulfeto sobre as arqueias metanogênicas, bactérias acidogênicas e redutoras de sulfato, além da redução da qualidade do biogás, com necessidade de remoção do H_2S. O biogás produzido em reatores anaeróbios tem sido utilizado para a geração de energia e, para os diversos meios de produção (transferência de calor, combustão ou turbinas para geração de eletricidade), a qualidade do biogás é crucial para a eficiência dos sistemas, em ambos os aspectos, conteúdo de CH_4 e pureza (Abatzoglou e Boivin, 2008).

Esforços têm sido realizados para remoção de sulfeto das correntes gasosas, principalmente em refinarias. Assim, com o intuito de remover o sulfeto do biogás algumas técnicas têm sido empregadas, como absorção em solução aquosa, adsorção e conversão biológica (Sublette, 1990; Syed *et al.*, 2006; Abatzoglou e Boivin, 2008; Filho, 2008). Outros sistemas empregados envolvem sistemas de aeração não catalisada ou biocatalisados eletroquimicamente ou quimicamente, com uso de cloro, ozônio, permanganato de potássio ou peróxido de hidrogênio. Lens *et al.*(1998) relatam também a remoção por precipitação com metais ou *stripping* do sulfeto de hidrogênio (H_2S), mas estes processos trazem desvantagens como consumo de energia e geração de resíduos.

A remoção do sulfeto na corrente líquida é menos discutida, porém, algumas estratégias podem ser utilizadas para a redução das concentrações de sulfeto no reator, e desta forma, reduzir os riscos de inibição do processo anaeróbio. Entre as estratégias podemos citar a diluição do afluente, aumento do pH, precipitação do sulfeto por metais, *stripping* e a separação da sulfetogênese e metanogênese. O aumento do pH pode ser considerada uma medida paliativa, já que o aumento do pH do meio líquido fará com que haja o deslocamento do H_2S para a fase líquida, promovendo assim somente a remoção do H_2S do biogás. A precipitação de metais pode ser uma alternativa vantajosa ao aliar a remoção do sulfeto à remoção de metais pesados. Entretanto, quando se tem por objetivo somente a remoção do sulfeto, algumas desvantagens como alto custo do processo e entupimento das conexões devem ser elencadas. O stripping, ou seja, o arraste do H_2S pode ser realizado com o reciclo do gás tratado (Figura 3.5-a) e tem por vantagem a remoção tanto da fase líquida quanto do biogás. A separação dos processos sulfetogênico e metanogênico pode ser realizada com um reator acidogênico, a posterior remoção do sulfeto e, finalmente, a produção de metano (Figura 5- b). As principais desvantagens dessas estratégias são o alto custo com a utilização de energia e reagentes químicos.

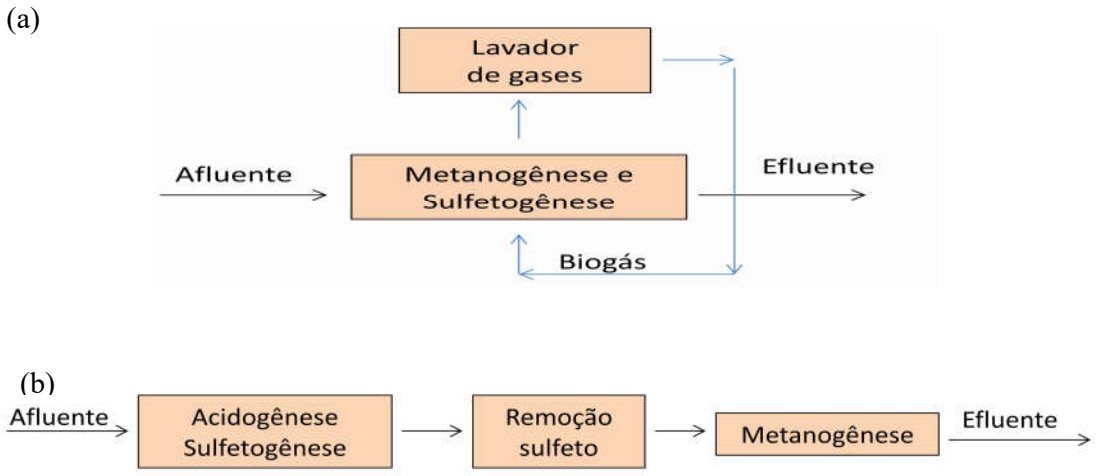

Figura 3.5: (a) esquema representativo do strippng do H_2S e (b) e a separação da sulfetogênese e metanogênese. Adaptado de Lens et al. (1998).

Além das estratégias para redução da concentração de sulfeto em reatores, alguns métodos para remoção do sulfeto da fase líquida também são utilizados, a exemplo os processos físico-químicos que envolvem a injeção direta de ar. No processo de oxidação com injeção direta de ar, ou ainda com reagentes químicos, os principais produtos finais são o sulfato e o tiossulfato. A formação de sulfato, principalmente, leva o tratamento ao que podemos chamar de ciclo fútil, já que o sulfato já removido volta a ser formado na corrente líquida devido à oxidação do sulfeto.

A oxidação do sulfeto também pode ser realizada por microrganismos, conhecida como rota biológica. Na natureza o sulfeto pode ser oxidado biologicamente de três formas: por bactérias fototróficas em condições anaeróbias, por microrganismos desnitrificantes e ainda por bactérias autotróficas com o oxigênio como aceptor final de elétrons, principalmente as espécies do gênero *Thiobacillus*. Kobayashi et al. (1983) e Cork (1985) propuseram o uso de bactérias fototróficas para a remoção de sulfeto e relataram o enxofre como produto final. Sublette & Sylvester (1987) investigaram o uso de bactérias desnitrificantes para a remoção do sulfeto e também relataram o enxofre como produto final. Buisman et al. (1989) investigaram um sistema para a conversão parcial do sulfeto a enxofre elementar e posterior recuperação por meio da oxidação por bactérias autotróficas e investigaram parâmetros para o controle da oxidação, como a injeção de baixas concentrações de oxigênio.

A remoção de sulfeto por meio da desnitrificação autotrófica envolve os compostos inorgânicos de enxofre como doador de elétrons por bactérias autotróficas, como *Thiobacillus*

denitrificans, para a redução do nitrato. Tal processo traz vantagens como a redução dos custos, já que bactérias autotróficas utilizam compostos com CO_2 como fonte de carbono e ainda a redução na produção de lodo (Manconi *et al.*, 2007). Parte dos trabalhos reportados que utilizam o sulfeto na desnitrificação autotrófica envolveu estudos com biomassa suspensa. A interação dos ciclos do nitrogênio e enxofre também foram estudados no Laboratório de Processos Biológicos utilizando o sulfeto como doador de elétrons. (Souza, 2011; Moraes *et al.*, 2012; Moraes *et al.*, 2013). Já a oxidação parcial do enxofre por bactérias da espécie *Thiobacillus* tem sido reportado com o controle da concentração de oxigênio (Buisman e Lettinga, 1990; Janssen *et al.*, 1999; Alcantara *et al.*, 2004; Kleinjan *et al.*, 2005b). A manutenção de baixas concentrações de oxigênio no meio justifica-se pela estequiometria das reações (Kuenen, 1975), segundo a qual, com elevada concentração de oxigênio no meio, o sulfeto pode ser reoxidado a sulfato. Desta forma, o controle da transferência e da concentração de oxigênio no meio líquido é fundamental para o processo.

A oxidação parcial do sulfeto a enxofre elementar traz como vantagens, além da remoção do sulfeto das correntes liquida e gasosa, a possibilidade da obtenção de um intermediário estável que pode ser removido do sistema, passar por processo de purificação e ser reutilizado como produto com valor agregado (Tichy *et al.*, 1994). Janssen et al. (1997) afirmam que o uso de bactérias autotróficas na conversão do sulfeto é vantajoso, já que são organismos possuem simples requisitos nutricionais, como o uso de dióxido de carbono como fonte de carbono e compostos reduzidos de enxofre como doadores de elétrons. Gijs Kuenen (1975) apresentou o papel das espécies de *Thiobacillus* no ciclo do enxofre e apresentou a reações estequiométricas para a conversão parcial do sulfeto a enxofre elementar.

$$2HS^- + O_2 \rightarrow 2S^0 + 2OH^- \qquad \Delta G^o = -169.35 \text{ kJ mol}^{-1} \tag{3.7}$$

$$2HS^- + 4O_2 \rightarrow 2SO_4^{2-} + 2H^+ \qquad \Delta G^o = -732.58 \text{ kJ mol}^{-1} \tag{3.8}$$

Como pode ser observado nas reações 3.7 e 3.8 o parâmetro chave para a conversão parcial do sulfeto a enxofre é a concentração limitada de oxigênio dissolvido. Na presença de oxigênio a conversão do sulfeto a enxofre elementar pode acontecer tanto por via biológica (Buisman e Lettinga, 1990; Janssen *et al.*, 1999; Alcantara *et al.*, 2004; Kleinjan *et al.*, 2005b) como por via química (Steudel, 1996; Gonzalez-Sanchez e Revah, 2007). Janssen *et al.*, (1999) reportaram que *Thiobacillus* podem competir com sucesso com processos químicos devido a sua alta afinidade por sulfetos, mas como a formação do sulfato produz mais energia, essa rota é preferencialmente realizada pelos microrganismos. Portanto, a formação de

enxofre elementar somente ocorrerá sob concentrações limitadas de oxigênio, ou ainda altas concentrações de sulfeto, e nesse contexto, a microaeração tem papel fundamental no processo.

A literatura tem reportado que a oxidação do sulfeto a enxofre elementar ocorre se a concentração de oxigênio for menor que 0,1 $mg.L^{-1}$ (Janssen *et al.*, 1995; Janssen *et al.*, 1997). Tal processo traz vantagens não apenas na remoção das formas ionizadas, mas também é vantajoso quanto à energia utilizada no processo para aeração, que é quatro vezes menor que a energia requerida para oxidar o sulfeto a sulfato.

A fim de manter as baixas concentrações de oxigênio no meio algumas configurações de reatores e formas de controle de oxigênio tem sido estudado. Trabalhos têm sido realizados com aeração em um tanque próprio com controle da concentração e posterior injeção do líquido contendo oxigênio dissolvido no reator (Janssen *et al.*, 1998; Janssen *et al.*, 1999; Alcantara *et al.*, 2004; Kleinjan *et al.*, 2005a). Essa técnica evita a turbulência no meio e permite maior controle sobre a dosagem de oxigênio no meio líquido reacional. Outra forma de aeração é a injeção direta de ar com vazão conhecida. (Buisman e Lettinga, 1990; Lohwacharin e Annachhatre, 2010).

Nos trabalhos realizados no Laboratório de Processos Biológicos da Universidade de São Paulo – LPB-EESC-USP foi observada a formação de enxofre elementar na saída dos reatores. Damianovic et al. (2007) e Damianovic & Foresti (2009), ao estudar reatores horizontais na remoção de sulfato, também observaram a formação de enxofre elementar na saída dos reatores e associaram a formação do mesmo devido à baixa pressão de gás no reator e a entrada de baixas concentrações de oxigênio na saída do reator. Além da formação de enxofre na saída dos reatores, foi verificada, na maioria deles, a formação de enxofre elementar nas mangueiras de descartes. As mangueiras utilizadas no laboratório são mangueiras comerciais de silicone, que apresentam baixo custo. Tais mangueiras são permeáveis a gás e apresentam potencial aplicabilidade para microaeração. Em suma, os trabalhos com sistemas sulfetogênicos, principalmente os realizados no LPB-EESC-USP, foram de extrema importância para a presente pesquisa, já que, a mesma baseia-se na hipótese sobre o uso de mangueiras de silicone para remoção de sulfeto e recuperação do enxofre elementar.

3.3 **Membranas para microaeração**

3.3.1 *Sistemas de tratamento baseados no uso de membranas.*

Sistemas com membranas são largamente utilizadas para o tratamento de águas e águas residuárias, e, a utilização de membranas para sistema de transferência gás-líquido tem sido empregada para sistemas aeróbios de tratamento de esgoto. Os sistemas de membrana podem oferecer um método eficiente e de baixo custo para a transferência de gás-líquido em reatores, já que, aeradores convencionais podem, por vezes, saturar de oxigênio o meio liquido, sendo esse um aporte em excesso que não será utilizado pela microbiota resultando no aumento energético e de custos para a aeração. Desta forma, os sistemas baseados em membranas oferecem um método de transferência de gás eficiente e de baixo custo, reduzindo também o volume dos reatores (Munasinghe e Khanal, 2010; Hussain *et al.*, 2011).

A tecnologia de membrana no tratamento de águas residuárias pode ser de três tipos: (i) separação liquido-sólido que são utilizadas para microfiltração e retenção de biomassa, (ii) membranas de extração para a difusão de poluentes para um meio menos concentrado, como um meio nutricional e (iii) membranas gás permeáveis, as quais são utilizadas para transferência de oxigênio sem formação de bolhas e adicionalmente podem servir como suporte para o desenvolvimento de biomassa (Brindle e Stephenson, 1996). As principais configurações são tubulares, fibra oca e tipo prato e os principais materiais utilizados são membranas densas (como exemplo, as membranas de silicone), politetrafluorotileno, teflon polietileno, entre outros (Brindle e Stephenson, 1996; Casey *et al.*, 1999b).

As configurações com membranas para transferência gás-liquido são bastante utilizadas como alternativa aos sistemas de difusores de ar. Membranas também são utilizadas em sistemas de aeração que necessitam que a formação de bolha seja evitada e assim a formação de turbulência no meio, já que o oxigênio é transportado diretamente da membrana para o meio liquido. A ausência de bolhas de oxigênio evita também arraste de compostos orgânicos voláteis e a formação de bolhas na presença de surfactantes.

A aeração de sistemas sem a formação de bolhas e com maior controle de aeração pode ser realizado tanto por membranas densas permeáveis a gás ou ainda por membranas porosas. Os trabalhos relacionados a membranas densas tem focado o uso das membranas de silicone para a permeação de gases (Brindle e Stephenson, 1996). As membranas de silicone, (polydimethylsiloxane – PMDS), apresentam alta permeabilidade e ainda alta resistência aos desgastes químicos e mecânicos (Debus e Wanner, 1992), além de oferecer vantagens operacionais como condições de alta pressão. (Côté *et al.*, 1989; Brindle e Stephenson, 1996).

Por outro lado, membranas porosas podem não ser tão resistentes e podem ter seus poros obstruídos. Robb (1968) estudou as propriedades de permeação das membranas de silicone e reportaram maior permeabilidade em comparação com outras membranas como teflon, polietileno, entre outras. A alta permeabilidade das membranas de silicone é devido ao fato de que compostos como o oxigênio são 4 ou 5 vezes mais solúveis em silicone que a água (Casey *et al.*, 1999b).

As membranas de silicones podem ser largamente utilizadas, já que são resistentes a desgastes químicos e são não porosas, o que evita a obstrução da mesma. Trabalhos na área de tratamento de águas residuárias têm utilizado a membranas de silicone como membrana extrativa para compostos orgânicos voláteis, tóxicos e recalcitrantes da indústria química (Livingston, 1994), poluentes orgânicos (Raghunath e Hwang, 1992; Brookes e Livingston, 1995; Brindle e Stephenson, 1996) e compostos orgânicos voláteis de enxofre (Manconi e Lens, 2009). As membranas são ainda utilizadas para a oxigenação do meio e remoção de compostos como xileno (Debus e Wanner, 1992), carbono e nitrogênio (Yamagiwa *et al.*, 1998) e também em células microbianas para geração de energia (Hussain *et al.*, 2011).

O mecanismo de transporte em membranas densas é a difusão. Em membranas densas, como as membranas de silicone, o oxigênio é dissolvido no polímero na parede em contato com o gás e é transportado por difusão até a parede em contato com o meio liquido, de menor pressão (Watson *et al.*, 1992). Por outro lado, membranas com microporos tem o transporte de oxigênio realizado através do sistema de poros por todo o polímero (Côté *et al.*, 1989).

A transferência de gases foi estudada para alguns sistemas com diferentes configurações e diferentes tipos de membrana, entretanto não há pesquisas relativas à mensuração do coeficiente de transferência de massa para membranas tubulares de silicone. Munasinghe e Khanal (2010) compararam o coeficiente de transferência de massa (K_La) para o CO em diferentes sistemas e concluíram que o menor K_La foi obtido para sistemas submersos de membranas ocas (0,4 h^{-1}). Baixos valores de transferência de CO em membranas de silicone também foram relatados por Hussain et al. (2011), os quais foram na ordem de 0,63 h^{-1} para membrana e 0,76 h^{-1} para membranas tubulares de silicone. Os autores atribuíram o maior valor de coeficiente para a membrana tubular devido à espessura da parede (9 μm). Camiloti (2012) também apresentou baixos valores de transferência para sistemas com membranas tubulares de silicone com 2.5 mm de espessura de parede, com média de 0,15 h^{-1} para membrana tubular submersa em meio líquido. Desta forma, é possível observar que a micro aeração do meio pode ser obtida por meio de transferência com membranas, tendo assim, maior controle do processo de aeração.

Além dos materiais utilizados, a disposição da membrana pode também influenciar na capacidade de transferência da membrana, como o caso das membranas helicoidais. A utilização de membranas helicoidais é relatada na literatura em biorreatores e em reatores para tratamento de águas residuárias (Gabelman e Hwang, 1999). Kaufhold et al. (2012) demonstraram que a utilização de membranas helicoidais aumentam a capacidade de transferência de massa devido a fenômeno "Dean vortices". Desta forma, a disposição helicoidal pode ser utilizada para o aumento da eficiência de transferência de gases.

Garcés et al. (dados não publicados) relataram que o aumento da pressão e da vazão também influenciam na transferência de massa em um sistema de membrana helicoidal submersa ao meio líquido. Foram estudadas três faixas de pressão (50, 100 e 150 mbar) e três níveis de vazão de ar (24, 60 e 96 $ml.min^{-1}$). Os valores de K_La encontrados para os diferentes níveis de pressão e vazão de ar mostram um significativo aumento da capacidade de transferência de 0,01 a 0,11 h^{-1}. Em Camiloti (2012) não foi observada a alteração dos valores de K_La para as faixas de pressão testadas (125 a 200 mbar) com membranas internas não-helicoidais. Foi relatado também que, com o aumento da pressão, houve a formação de bolhas, o que resultou em uma resistência extra à transferência. Desta forma, além da configuração utilizada, variáveis de controle operacional podem ser utilizadas para um melhor controle da transferência, como exemplo, pressão e fluxo de ar no interior da mesma.

3.3.2 *Formação de biofilme em membranas*

A combinação dos sistemas de membranas com a utilização de biofilme é reconhecido como um método eficiente para o aumento da eficiência de sistemas de tratamento e o seu uso tem crescido nos últimos anos (Brindle e Stephenson, 1996). Em sistemas de biofilme aerado em membranas, a imobilização do biofilme é realizada nas paredes da membrana de forma que o oxigênio é transferido pela parede da mesma e é utilizado pelos microrganismos aderidos. Casey et al. (1999b), em uma revisão sobre biofilme aderido em membranas, definiram os reatores de biofilme aerado em membranas (MABR) como sistemas nos quais uma das faces da membrana está pressurizada com ar ou oxigênio e a outra face tem o biofilme aderido. Os autores também apresentam o esquema no qual o biofilme aderido tem a penetração de oxigênio por um lado a penetração de substrato no lado oposto, onde a degradação do poluente ocorre (Figura 3.6).

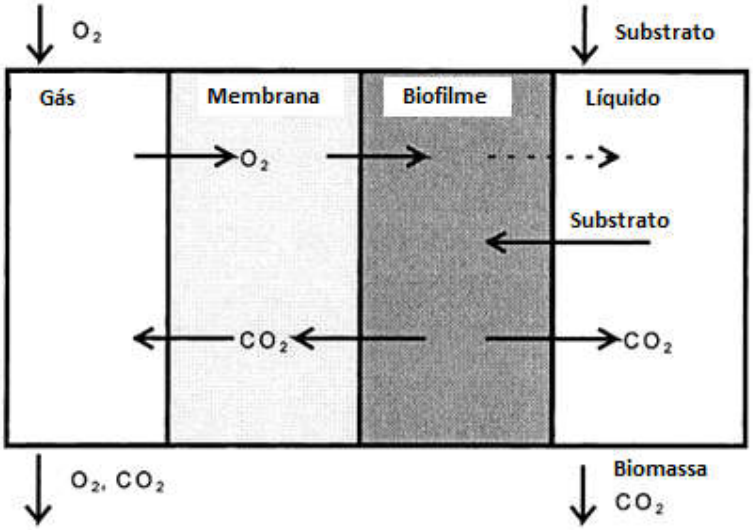

Figura 3.6: Esquema representativo de um sistema de biofilme aerado em membrana. Adaptado de Casey et al. (1999b).

A imobilização do biofilme pode ocorrer em diversos tipos de membranas, como membranas planas, em forma de pratos ou quadros, membranas em forma de bobinas tubulares, ou ainda membranas de fibra oca. Os materiais também são diversos como silicone, teflon e polipropileno. As membranas planas ou tubulares podem ser de materiais densos como silicone ou porosos como o polipropileno. O uso de membranas tubulares tem como vantagem a maior área superficial por unidade de reator e a habilidade de trabalhar com altas vazões a fim de aumentar a transferência do poluente no biofilme (Casey *et al.*, 1999a) e a utilização de membranas de silicone proporcionam maior robustez ao sistema.

A literatura tem reportado a utilização do sistema MABR com diferentes configurações para diversos poluentes, a exemplo, para remoção de nitrogênio (Timberlake *et al.*, 1988; Brindle *et al.*, 1998; Terada *et al.*, 2003), nitrificação e remoção de matéria orgânica (Suzuki, 1994; Yamagiwa et al., 1994; Yamagiwa et al., 1998). O uso de membranas de silicone também tem sido reportado para remoção de matéria orgânica (Casey et al., 1999a), água residuária de indústria alimentícia (Wilderer et al., 1985), remoção de fenol e clorofenóis (Woolard e Irvine, 1994) e remoção de xilenos (Debus e Wanner, 1992). Entretanto, esse sistema ainda não foi empregado para a remoção de sulfeto de águas residuárias.

Parte dos sistemas MABR mencionados foram estudados com culturas mistas propiciando diferentes camadas no biofilme, já que as duas faces do biofilme estão expostas a diferentes condições e, desta forma, a degradação anaeróbia e aeróbia pode ocorrer no mesmo biofilme. O conceito de camadas no biofilme é de extrema importância no entendimento do

sistema MABR. Casey et al. (1999b) relatam que a camada onde o oxigênio irá penetrar, a camada ativa, tem comumente de 50 a 200 mm de espessura. Entretanto, a espessura total do biofilme, em sua maioria, será mais espessa que a camada ativa, formando assim camadas anóxicas no mesmo biofilme. Outro aspecto importante relatado é que para biofilmes mais espessos haverá uma camada onde ambos os substratos serão limitados e por muitas vezes micro nichos anóxicos poderão aparecer em camadas óxicas e uma separação definida dessas camadas não ocorre.

A estratificação do biofilme pode trazer vantagens para alguns sistemas como de remoção de compostos nitrogenados por nitrificação autotrófica e desnitrificação heterotrófica. Okabe et al. (1996) estudaram o biofilme por meio de micro cortes para avaliar a presença de camada nitrificante e heterotrófica e relataram que as cargas de matéria orgânica e nitrogênio influenciaram no desenvolvimento das espécies em cada camada. Outro exemplo de estratificação foi relatado por Kuhl & Jorgensen (1992) que relataram a presença de bactérias redutoras de sulfato e arqueias metanogênicas na camada mais profunda do biofilme, e que na camada ativa (de 0,2 a 0,4 mm), o sulfeto produzido era reoxidado a sulfato.

Entretanto, o controle do desenvolvimento do biofilme também é importante. Casey et al. (1999a) relatou a operação de um reator MABR com membrana tubular de silicone e, aplicando modelo matemático aos dados, relataram as diferentes atividades de cada camada no biofilme e que existe uma espessura ótima do biofilme, onde a limitação dupla de substrato não ocorrerá. A camada de limitação dupla ocorre entre a camada ativa e a camada que recebe o substrato (biofilme-liquido) e que a transferência de oxigênio até a camada reacional, onde o composto será degradado depende diretamente da espessura da camada onde ocorre a dupla limitação. Os autores também relatam que o aumento da pressão de oxigênio pode eliminar os problemas com limitação de oxigênio. Desta forma, estratégias de controle do biofilme devem ser adotadas a fim de otimizar o processo e utilizar de melhor maneira possível a estratificação do biofilme.

3.4 **Considerações finais**

Por meio da revisão da literatura buscou-se explicitar os fundamentos e os avanços tecnológicos que sustentam a hipótese principal desse projeto. Outro ponto importante são as observações realizadas nos trabalhos feitos pelo grupo do LPB-EESC-USP, nos quais foi fundamentada a hipótese principal do presente trabalho. As observações se referem a potencialidade do uso de membranas comerciais de silicone para a microaeração do meio,

para a remoção do sulfeto produzidos nos reatores sulfetogênicos pela conversão a enxofre elementar.

Os processos de microaeração podem representar menor consumo energético dentro do sistema quando comparados com sistemas convencionais de aeração, ao passo que, com o uso de membranas tubulares de silicone, a microaeração pode ser obtida. Nesse sentido, o entendimento sobre sistema que utilizam membranas para aeração e a natureza das membranas é de extrema importância.

CAPÍTULO 4

4 MATERIAIS E MÉTODOS

"A felicidade não se resume na ausência de problemas, mas sim na capacidade de lidar com eles."
Albert Einstein

4.1 Estrutura do experimento

O projeto de pesquisa foi baseado no uso de diferentes sistemas, ou seja, o uso de diferentes reatores anaeróbio/microaerado para a remoção composto de enxofre de águas ricas em sulfato. A remoção de compostos sulfurosos pode ser entendida, nesse contexto, pela redução do sulfato e posteriormente pela conversão do sulfeto produzido a enxofre elementar. A redução do sulfato se deu nos reatores anaeróbios enquanto que a conversão do sulfeto ficou a cargo dos reatores microaerados.

Foram avaliados quatro diferentes sistemas para a conversão dos compostos de enxofre. Os sistemas, que apresentavam a união de reatores anaeróbios e microaerados, foram estudados de forma combinada e integrada, além de utilizar diferentes formas para a transferência de massa por meio da membrana de silicone. Os sistemas integrados foram desenhados para que o tratamento do sulfeto fosse realizado logo após sua produção, evitando assim perdas do mesmo, desta forma no sistema integrado os processos anaeróbios e microaerados ocorriam em um único reator. Já os sistemas combinados foram estudados a fim de avaliar a influencia da separação dos reatores na remoção dos compostos, sendo, portanto, reatores sequenciais. A transferência de massa foi diferenciada nos sistemas pela disposição da membrana nos mesmos, as quais foram externas ao reator e submersa no meio líquido.

Outro ponto importante a ser mencionado é quanto à constituição dos sistemas, os quais não foram construídos a fim de comparação final. Cada sistema foi construído pensando em sanar os desafios práticos encontrados no sistema anterior, sendo assim, cada sistema foi estudado com variáveis individualizadas pertinentes a cada sistema sem comprometimento com comparações futuras. A Figura 4.1 apresenta os principais questionamentos realizados em cada etapa, os quais levaram a construção e operação de cada configuração apresentada.

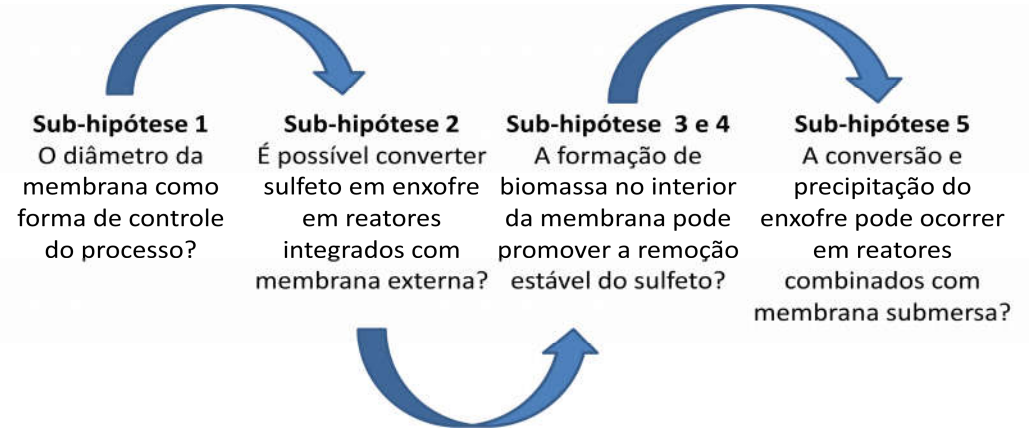

Figura 4.1: Sequencia de sub-hipóteses testadas em toda etapa experimental do projeto.

Com base nas informações descritas, a etapa experimental do projeto foi realizada com a operação de três diferentes configurações, a saber:

- Sistema Integrado ABFSB-RME: Reator anaeróbio de leito fixo e ordenado (ABFSB) integrado a um reator microaerado com membrana tubular de silicone externa ao meio líquido (RME);
- Sistema Combinado UASB-RMHE: Reator anaeróbio de manta de lodo e escoamento ascendente (UASB) combinado a um reator microaerado com membrana tubular de silicone helicoidal e externa ao meio líquido (RMHE).
- Sistema Combinado ABFSB-RMHS: Reator anaeróbio de leito fixo e ordenado (ABFSB) combinado a um reator microaerado com membrana tubular de silicone helicoidal e submersa no meio líquido (RMHS).

A Figura 4.2 apresenta um esquema com o resumo dos principais parâmetros, condições experimentais e objetivos dos sistemas estudados. Além disso, é apresentado também um resumo de uma configuração utilizada para comparação dos resultados dessa pesquisa.

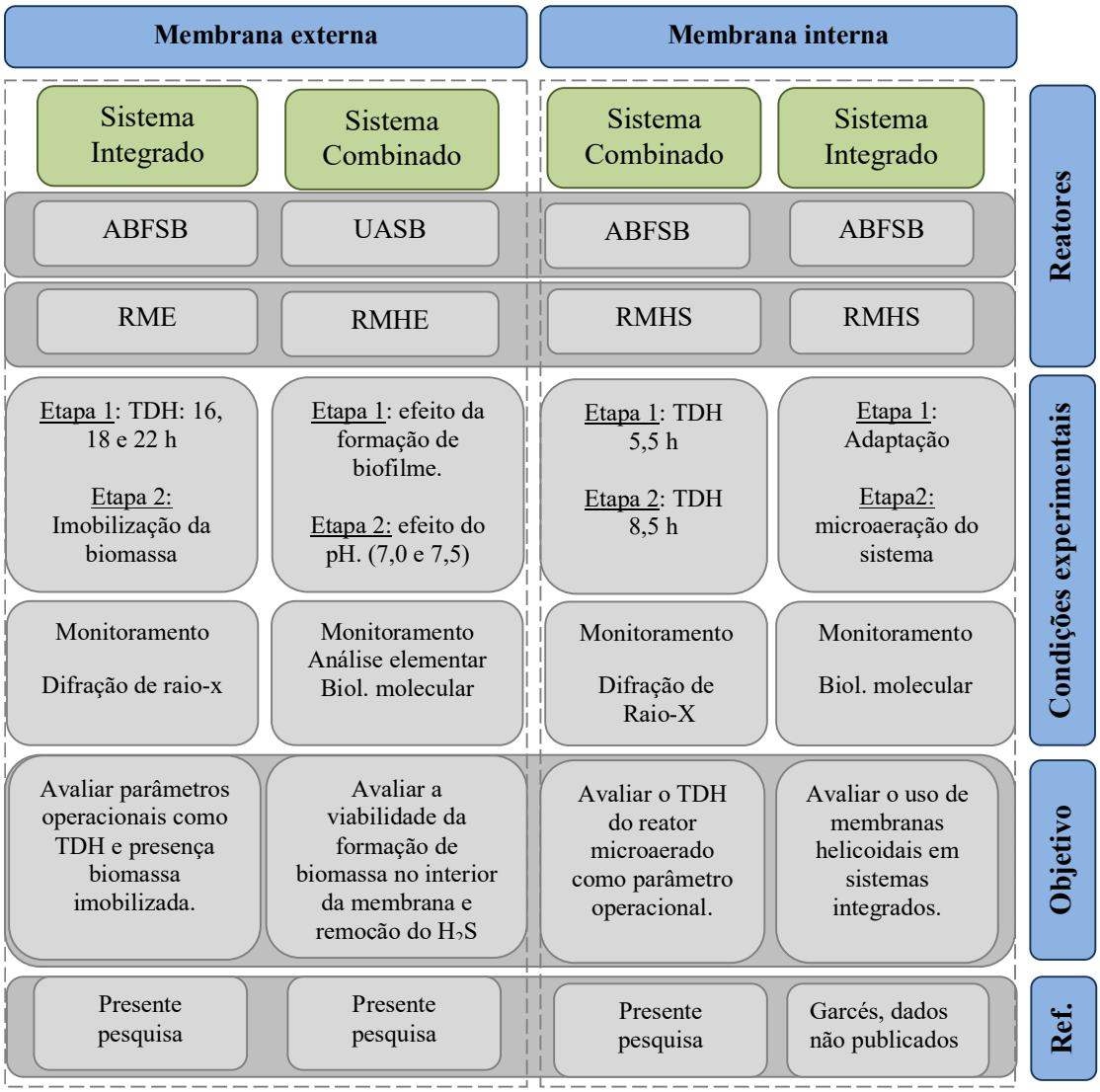

Figura 4.2 : Esquema da estrutura experimental da pesquisa

O sistema integrado ABFSB-RME visou testar a sub-hipótese 2 referente ao uso do sistema combinado com membranas tubulares de silicone para a microaeração do meio. O objetivo aqui foi o estudo exploratório do sistema de reatores integrados para a remoção de compostos de enxofre. O reator microaerado foi estudado em bateladas por Camiloti (2012), porém a integração com reator anaeróbio de modo contínuo poderia trazer vantagens adicionais, como o tratamento do sulfeto logo após sua produção, evitando assim perdas do mesmo, ou seja, a vantagem do tratamento dos compostos de enxofre com a recuperação de seu intermediário estável em um único sistema. Além do estudo da viabilidade do uso do sistema combinado, foi estudada a influência de parâmetros operacionais como variação do Tempo de Detenção Hidráulica (TDH) e imobilização da biomassa no reator microaerado. Os resultados do sistema integrado geraram as demais sub-hipóteses e, então, os demais sistemas

combinados foram concebidos a fim de aperfeiçoá-lo além de testar outros parâmetros operacionais.

O sistema combinado UASB-RMHE teve por objetivo testar a remoção do sulfeto pela formação de biomassa no interior da membrana (sub-hipótese 3). O sistema foi concebido com o aumento no comprimento da membrana para consequente aumento da concentração de biomassa e foi avaliado com a disposição da membrana de forma helicoidal. A sub-hipótese 4 foi avaliada também no sistema UASB-RMHE, no qual o efeito do aumento do pH na remoção do H_2S foi avaliado.

Já o sistema combinado ABFSB-RMHS visou avaliar a sub-hipótese 5, a qual pressupõe que o sulfeto pode ser removido de maneira continua e estável em reatores de membrana interna ao meio liquido, desde que a retirada do enxofre elementar formado seja constante. O sistema ABFSB-RMI foi desenhado a fim de permitir a sedimentação e retirada do enxofre formado nas paredes da membrana.

4.2 **Sistema Integrado ABFSB-RME: Biorreator Anaeróbio de Leito Fixo e Ordenado (ABFSB) com membrana tubular de silicone externa ao meio líquido (RME).**

4.2.1 *Descrição do reator*

O reator anaeróbio utilizado para o sistema integrado anaeróbio/microaerado ABFSB-RME foi um Reator de Leito Fixo e Ordenado (ABFSB) baseado em Mockaitis et al. (2014) e Camiloti et al., (2013). A unidade de microaeração, Reator de Membrana Externa (RME), foi baseada em Camiloti (2012) e tem como diferencial o uso de tubos de silicone para a microaeração do meio. A Figura 4.3 apresenta os detalhes da configuração do reator combinado.

O material suporte do Reator de Leito Fixo e Ordenado foi composto por 17 hastes de espuma de poliuretano com densidade aparente de 23 $kg.m^{-3}$, com arestas de 1 cm e comprimento de 70 cm. A orientação do fluxo foi dada pela disposição das hastes em dois octógonos circunscritos concêntricos e uma haste central, conforme ilustrado pela Figura 4.4.

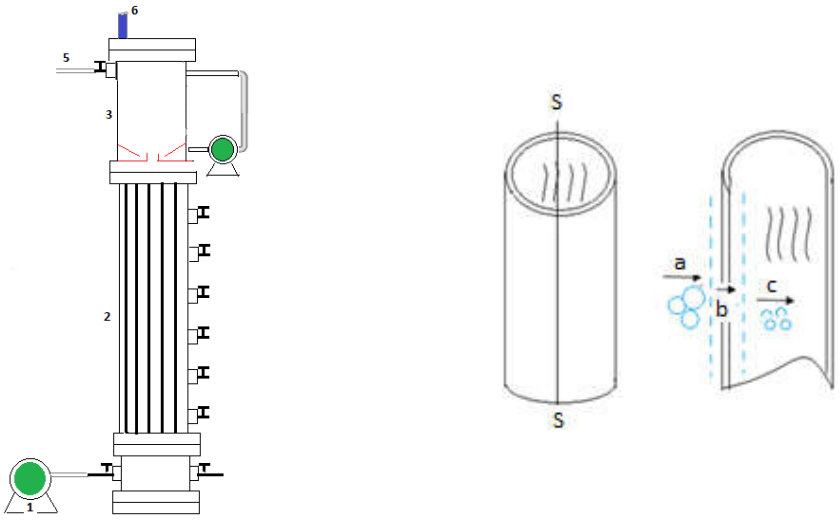

Figura 4.3: Sistema Integrado ABFSB-RME: 1- Bomba peristáltica; 2- Reator anaeróbio de leito fixo e ordenado; 3- Reator microaerado; 4- Membrana de silicone; 5- Saída do efluente; 6- Saída de gás) e corte transversal da membrana indicando o fluxo de oxigênio através da mesma.

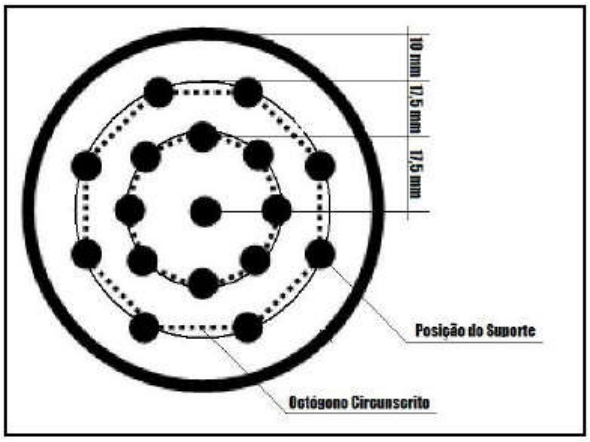

Figura 4.4: Esquema de corte transversal do corpo do reator mostrando a disposição das hastes de espuma de poliuretano (Mockaitis, 2011).

A membrana de silicone utilizada para a microaeração (Figura 4.5) possuía diâmetro interno de 8,0 mm, espessura de 2,4 mm e comprimento de 20 cm. O efluente gerado pelo reator anaeróbio passava diretamente para a unidade microaerada, na qual era recirculada com auxilio de uma bomba peristáltica pelo interior da membrana de silicone. A transferência de oxigênio era realizada sob pressão atmosférica.

Figura 4.5: membranas tubulares de silicone comercial e corte de três membranas com diferentes diâmetros.

O reator anaeróbio apresentava volume aproximado de 5,2 L (4,8 L + 0,4 L cabeçote) e a unidade microaerada contou com a utilização de três volumes distintos, os quais foram: 1,2; 2 e 3,75 L. Na Etapa I o sistema foi operado de modo contínuo em escala de bancada com TDH aproximado de 13 h para unidade anaeróbia e TDH aproximado de 3,0; 5,0 e 9,5 h para a unidade microaerada, totalizando TDH de 16, 18 e 22,5 h. A vazão de alimentação foi de aproximadamente 0,396 $L.h^{-1}$ e vazão de recirculação na membrana de 4,8 $L.h^{-1}$ e com temperatura mantida em 25 ± 1ºC. A Figura 4.6 apresenta o sistema operado, assim como as unidades cambiáveis de diferentes volumes.

Para a segunda etapa da pesquisa, que visou verificar a influência da biomassa aderida, 17 hastes de espuma de poliuretano com comprimento de 20 cm foram colocadas na unidade microaerada com o mesmo posicionamento da unidade anaeróbia. Na etapa II foram testadas duas fases, nas quais o material suporte utilizado foi inoculado previamente com biomassa anaeróbia para posterior adaptação dos microrganismos e desenvolvimento de bactérias oxidadoras de sulfeto (Fase II-I) e a (Fase II-II) na qual o material suporte foi colocado sem inoculação prévia na unidade microaerada. A Tabela 4.1 sumariza as principais dimensões das unidades do reator combinado.

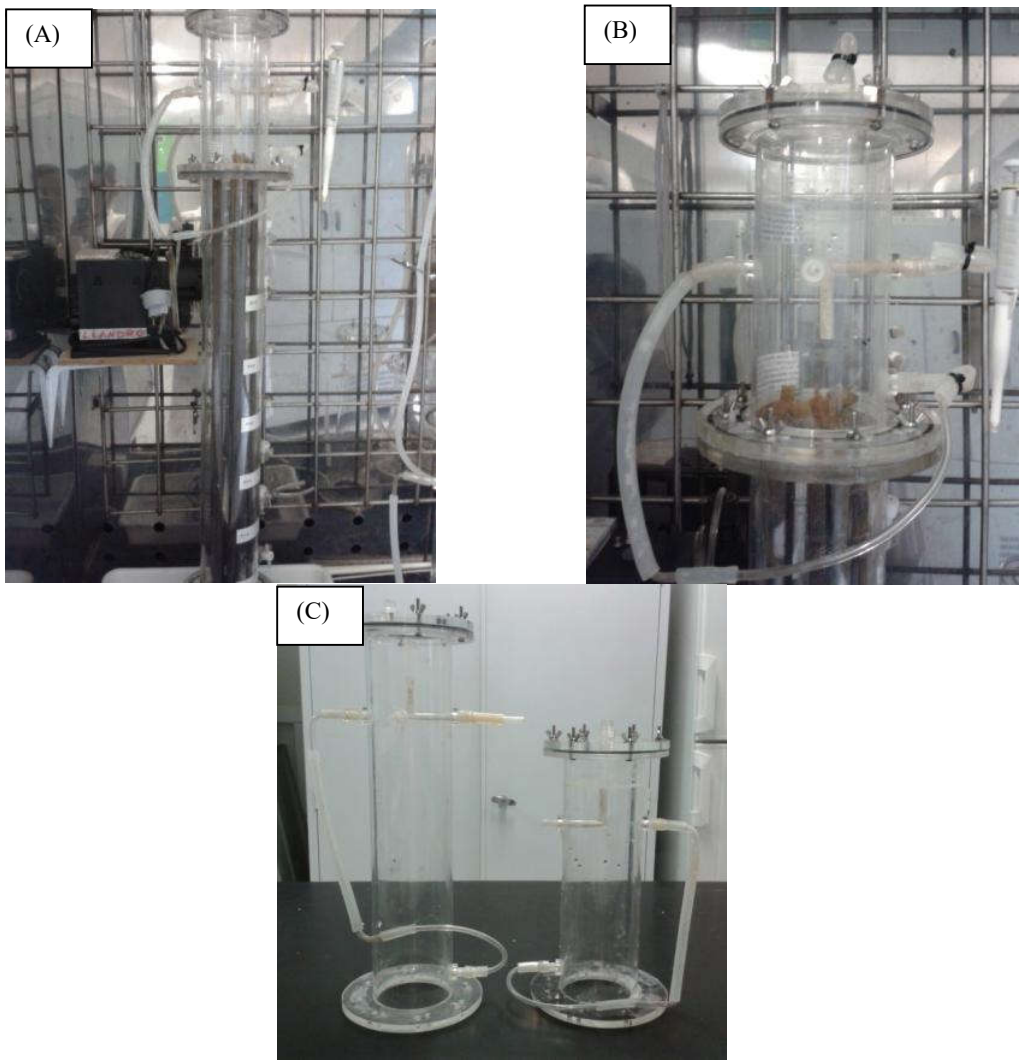

Figura 4.6: Sistema Integrado ABFSB-RME (A) em (B) detalhe da unidade microaerada (1,2 L) e da membrana tubular externa ao meio líquido e em (C) as unidades cambiáveis com volume de 2 e 3,75 L.

Tabela 4.1: Dimensões das configurações utilizadas no sistema integrado ABFSB - RME.

Dimensões	**Etapa I**	**Etapa II**
Volume Reator anaeróbio (L)	5,15	5,15
Volume Reator microaerado (L)	1,2; 2 e 3,75	1,2
Vazão alimentação ($L.dia^{-1}$)	9,5	9,5
Dimensão membranas (Φint x Φext x comp.)	8 x 12,8 x 200 mm	8 x 12,8 x 200 mm
Espessura parede da membrana	2,4 mm	2,4 mm

4.2.2 *Inóculo*

O reator ABFSB foi inoculado com biomassa proveniente de reator anaeróbio de manta de lodo e escoamento ascendente (UASB), tratando água residuária de abatedouro de aves (Avícola Dacar S.A.). A imobilização da biomassa nas espumas de poliuretano foi realizada conforme metodologia apresentada por Zaiat et al. (1994). As hastes de poliuretano foram dispostas em um recipiente e o lodo macerado foi adicionado onde permaneceram em contato por 2 h. O reator foi mantido em operação em circuito fechado por uma semana, visando o desenvolvimento do biofilme e adesão da biomassa ao suporte (Figura 4.7).

Figura 4.7: Imobilização da biomassa no material suporte da unidade anaeróbia.

A imobilização das espumas na segunda etapa, na qual o reator microaerado RME também possuiu material suporte foi realizada nas mesmas condições com biomassa de mesma procedência.

4.2.3 *Água residuária*

O sistema integrado foi alimentado com água residuária sintética complexa para simular, em composição e em concentração, o esgoto sanitário doméstico, apresentando uma concentração de 500 $mgO_2.L^{-1}$ em termos de DQO (Camiloti *et al.*, 2013) apresentada na Tabela 4.2. O sulfato foi adicionado na forma de sulfato de sódio na concentração ideal para que relação DQO/SO_4^{2-} igual a 2 fosse mantida, com concentração de aproximadamente 250 $mg.L^{-1}$. Os primeiros quatro constituintes (sacarose, amido, celulose, extrato de carne) eram diluídos em água com ajuda de um agitador magnético. Após a diluição o sulfato de sódio também era diluído com cuidado a fim de se evitar a formação de cristais. O óleo de soja (50 μL) era misturado à solução de detergente e adicionado à mistura juntamente com a solução de sais (coreto de sódio, cloreto de cálcio e cloreto de magnésio), preparada previamente.

Tabela 4.2: Composição da água residuária sintética para DQO de 500 $mg.L^{-1}$.

Constituintes	Concentração (mg/L)
Sacarose	35
Amido	114
Celulose	34
Extrato de carne	208
Cloreto de Sódio (NaCl)	250
Cloreto de Cálcio ($CaCl_2.2H_2O$)	4,5
Cloreto de Magnésio ($MgCl_2.6H_2O$)	7
Bicarbonato de Sódio ($NaHCO_3$)	200

4.2.4 *Operação do reator*

A operação do sistema integrado foi dividida em duas etapas. A primeira etapa contou com a avaliação da influência do TDH do reator na remoção do sulfato e sulfeto e a conversão deste em enxofre elementar. Para tanto foram utilizados três volumes distintos para a unidade microaerada do reator: 1,8, 2,3 e 4 L, resultando em TDH de 16, 18 e 22,5 horas.

Na segunda etapa foi avaliada a influência da presença de biomassa aderida no reator microaerado. A etapa foi subdividida, sendo que na primeira fase o material suporte foi previamente inoculado com biomassa anaeróbia e na etapa seguinte foi utilizado material suporte sem inoculação prévia. Para as duas etapas, as membranas de silicone eram trocadas regularmente, já que havia a deposição de partículas de enxofre nas paredes da membrana, reduzindo assim a capacidade de transferência de massa. A Tabela 4.3 sumariza os principais parâmetros operacionais para cada etapa estudada utilizando a configuração.

Tabela 4.3: Parâmetros operacionais para o sistema integrado ABFSB - RME.

Parâmetro	Unidade	Etapa 1			Etapa 2
		Fase I	Fase II	Fase III	Fase I e II
$DQO_{Afluente}$	$mg\ O_2\ L^{-1}$	500	500	500	500
$[SO_4^{2-}]_{Afluente}$	$mg\ SO_4^{2}\ L^{-1}$	250	250	250	250
Volume RME	L	1,2	2,0	3,75	1,2
COV teórica	$gO_2\ L^{-1}\ d^{-1}$	0,75	0,67	0,54	0,75
TDH RME teórico	h	3,0	5,0	9,5	3,0
TDH Total teórico	h	16	18	22,5	16

4.3 Sistema combinado UASB-RMHE: Reator UASB combinado a Reator com membrana tubular de silicone helicoidal e externa ao meio líquido (RMHE)

4.3.1 *Descrição do reator*

A segunda configuração utilizada foi um reator combinado anaeróbio/microaerado com um Reator UASB como unidade anaeróbia e um Reator de Membrana Externa (RMHE) (Figura 4.8) para a unidade microaerada. O reator UASB foi conectado a uma membrana tubular de silicone de 200 cm de comprimento. A membrana foi alocada no interior de um módulo plástico, o qual teve por objetivo o armazenamento de gases, tanto o oxigênio quanto os gases que eram desorvidos através da membrana. Este era conectado a um frasco de 2 L, o qual continha oxigênio puro, e também conectado a uma bomba para a recirculação dos gases (Figura 4.8 e Figura 4.9). Uma proveta foi também conectada ao frasco de armazenamento de fases para medida de consumo de oxigênio. Com o consumo de oxigênio e a queda do volume de gases dentro do frasco, havia o enchimento do mesmo com água, medido por meio da proveta.

Na primeira etapa, dois reatores foram operados paralelamente, no qual o primeiro (R1) foi o reator controle, sem microaeração, e o segundo (R2) foi o sistema combinado a um reator microaerado. Na etapa 2 outro sistema combinado foi operado a fim de avaliar a influência do pH na conversão do sulfeto a enxofre elementar. Para todas as condições com microaeração, o efluente do reator UASB foi recirculado através da membrana de silicone com uma vazão de 2.7 $L.h^{-1}$. O sistema de recirculação de gases foi operado com vazão de recirculação de 2.4 $L.h^{-1}$. As três configurações foram todas construídas em acrílico e foram utilizadas em suas conexões mangueiras Tygon® para evitar a permeação de oxigênio. A Tabela 4.4 sumariza as principais dimensões das configurações estudadas.

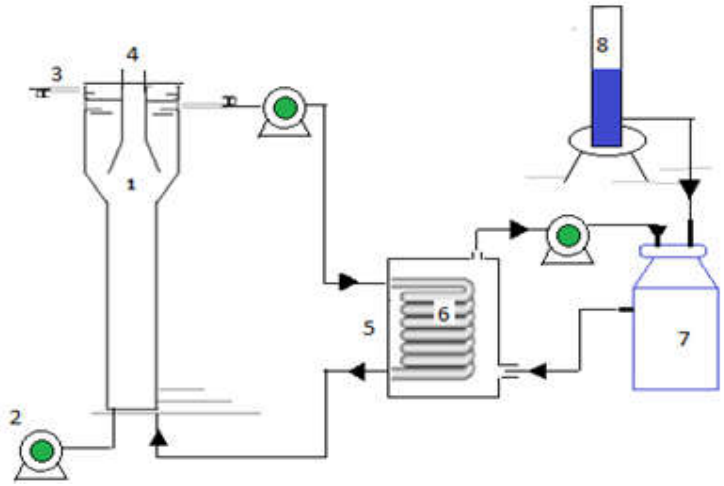

Figura 4.8: Sistema combinado 2 UASB-RMHE: 1- Reator UASB; 2- Bomba peristáltica; 3- Saía do efluente 4- Saída de gás; 5-Reator microaerado; 6- Membrana de silicone; 7- Reservatório de oxigênio; 8- Proveta para mensurar consumo de oxigênio.

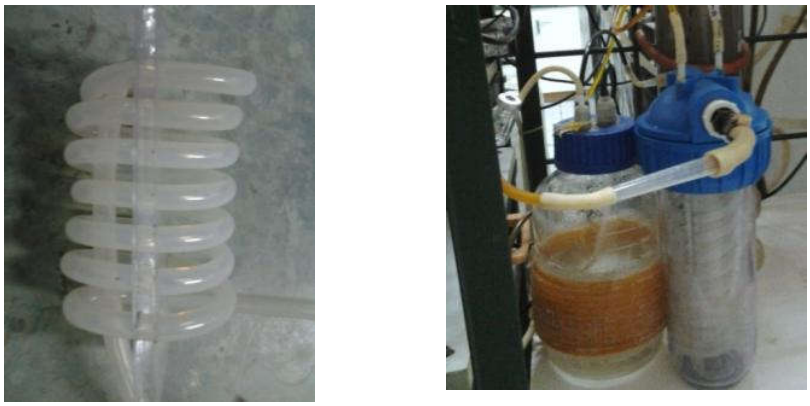

Figura 4.9: Módulo para armazenamento da membrana de silicone e frasco de armazenamento de gases. No detalhe membrana de silicone antes de ser inserida no módulo.

Tabela 4.4: Dimensões das configurações utilizadas no sistema combinado UASB-RMHE.

Dimensões	**Etapa I**	**Etapa II**	
	R1	**R2**	**R2**
Volume Reator anaeróbio (L)	2,1	2,9	2,9
Volume Reator microaerado (L)	---	0,02	0,02
Vazão alimentação ($L.dia^{-1}$)	1,9	1,8	1,8
Dimensão membranas (Φint x Φext x comprimento - mm)	-----	8 x 12,8 x 200	
Espessura parede da membrana (mm)	-----	2,4	2,4

4.3.2 *Inóculo*

Os reatores UASB foram inoculados com biomassa proveniente de reator anaeróbio de manta de lodo e escoamento ascendente (UASB), tratando água residuária de cervejaria (Cervecera CCU Chile Ltda.).

4.3.3 *Água residuária*

Os reatores combinados que utilizaram reatores UASB, os quais foram operados na Universidad de La Frontera, foram alimentados com vinho diluído em água. A concentração de matéria orgânica, em termos de DQO, foi de aproximadamente 12 $g.L^{-1}$ e 8,3 $g.L^{-1}$ para R1 e R2, respectivamente, com carga final de 6,0 $kgO_2.L^{-1}.dia^{-1}$. A concentração de sulfato afluente foi em média 200 $mg.L^{-1}$, o qual foi adicionado na forma de sulfato de sódio. O vinho em sua composição apresenta concentrações de sulfato em média de 500 $mg.L^{-1}$. Bicarbonato de sódio foi adicionado com concentração de 10 $g.L^{-1}$ para manutenção do pH.

4.3.4 *Operação do reator*

Na primeira etapa do estudo foram operados dois reatores simultaneamente. O primeiro reator (R1) foi operado sem microaeração como controle e o segundo reator (R2) foi operado a fim de avaliar a remoção do sulfeto com a formação do biofilme no interior da membrana. Já na segunda etapa outro sistema (R3) foi operado a fim de avaliar o efeito do pH na remoção do sulfeto em sua fase gasosa com a alteração dos valores de pH do meio líquido (pH 7,0 e 7,5). A Tabela 4.5 apresenta as condições operacionais do sistema.

Tabela 4.5: Parâmetros operacionais para o sistema combinado UASB-RMHE.

Parâmetro	Unidade	Controle	Microaração	
		R1	R2	R3
$DQO_{Afluente}$	$g\ L^{-1}$	12,1	8,3	8,3
COV	$kgO_2\ L^{-1}\ d^{-1}$	6,5	6,5	6,5
$[SO_4^{2-}]_{Afluente}$	$mg\ L^{-1}$	200	200	200
pH		7,0	7,0	7,0 e 7,5

4.3.5 *Testes em batelada*

No dia 92 de operação, o reator foi desconectado da membrana e a mesma foi conectada a um frasco para testes em batelada a fim de avaliar a capacidade do biofilme em reduzir o enxofre produzido novamente a sulfeto. Os testes foram realizados em frascos de 500 ml contendo $1g.L^{-1}$ de $NaHCO_3$. O teste foi realizado em temperatura de 30ºC e com auxílio de um agitar magnético a 50 rpm. Após 210 minutos de ensaio foi adicionado etanol

(0.5 gDQO.L^{-1})como doador de elétrons para a redução do enxofre. Sulfeto, sulfato, DQO e oxigênio foram analisados em intervalos iguais de tempo.

4.3.6 *Caracterização microbiana*

O sequenciamento massivo de amplicons do gene rRNA 16S foi realizado para as amostras do reator combinado UASB-RMHE a fim identificar os microrganismos envolvidos nas conversões dos elementos do ciclo do enxofre e confirmar a presença de diferentes camadas de biofilme no interior da membrana. Três amostras foram coletadas ao final da operação no interior da membrana tubular, duas delas foi o material aderido à parede da membrana de silicone e outra amostra coletada no interior da membrana. Das amostras coletadas da parede foram retiradas uma amostra da biomassa aderida (B) e uma amostra de formação de partículas de enxofre (S). A amostra retirada do interior da membrana foi identificada como BI. As três amostras estão identificadas na Figura 4.10.

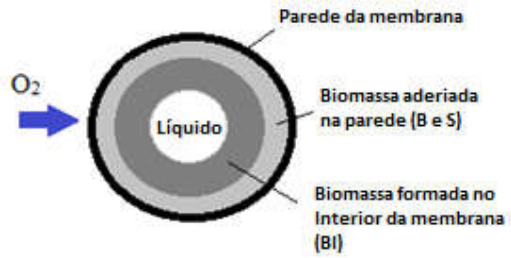

Figura 4.10: Representação esquemática da formação de biofilme no interior da membrana do sistema combinado UASB-RMHE com a identificação das amostras.

As amostras foram coletadas e lavadas três vezes com tampão fosfato, seguida pela centrifugação a 4ºC por 3000 rpm. Após a lavagem os pellets foram armazenados a -20ºC. O DNA foi extraído usando fenol/clorofórmio segundo metodologia descrita em Griffiths et al, (2000). A quantificação e análise da pureza foram realizadas em espectrofotômetro Nanodrop 2000. Os DNA extraídos purificados apresentaram concentração mínima de 50 ng.L^{-1} e relação 260/280 1,8-2,0 e posteriormente foram enviados ao Laboratótio de Biotecnologia Animal, Departamento de Zootecnia (ESALQ/USP Piracicaba, Brasil), para o sequenciamento massivo na Plataforma Illumina MiSeq (2x250bp)

Os genes rRNA foram amplificados para o sequenciamento com os primers CCTACGGGNGGCWGCAG 16S (S-D-Bact-0341-b-S-17) e GACTACHVGGGTATCTAATCC (S-D-Bact-0785-a-A-21). Para o pré-processamento e a montagem foi utilizado o software CASAVA 1.8.2, fornecido pela Illumina. Esse software

realiza o base call dos dados brutos e os transforma em reads no formato fastq acompanhados dos scores de qualidade phred.

A filtragem das leituras, das sequências e dos reads foi realizada de acordo com o software Seqyclean (https://bitbucket.org/izhbannikov/seqyclean). A qualidade mínima foi de 24 (QPhred) e o comprimento mínimo das sequências de 65 pb. E para a remoção de vetores utilizou-se a base de contaminantes Univec (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/VecScreen/UniVec.html). O alinhamento das sequências foi realizado de acordo com Pynast (Caporaso et al., 2010). Para determinação das unidades taxonômicas operacionais (OTUs) uitilizou-se 97 % de similaridade.

As sequencias foram processadas utilizando o Ribosomal Database Project (RDP) Pyrosequencing Pipeline (http://pyro.cme.msu.edu/index.jsp). O limiar de confiança utilizado foi de 80% para gênero e 50% para outros níveis taxonômicos (Fhilo-Familia). O diagrama que relaciona as amostras a cada gênero foi construído de acordo com Krzywinski et al. (2009). As sequências geradas nesse estudo serão depositadas no European Nucleotide Archive (http://www.ebi.ac.uk).

4.4 Sistema combinado ABFSB-RMHS: Reator de Leito Fixo e Ordenado (ABFSB) combinado a reator com membrana tubular de silicone helicoidal e submersa no meio líquido (RMHS)

O reator anaeróbio utilizado para o sistema combinado também foi um Reator de Leito Fixo e Ordenado. A unidade de microaeração nesta configuração foi baseada no Reator de membrana tubular de silicone helicoidal e submersa no meio líquido - RMHS, o qual tem por diferencial o uso de membranas imersas ao meio líquido e transferência de massa do interior para o exterior da membrana (Figura 4.11 e 4.12).

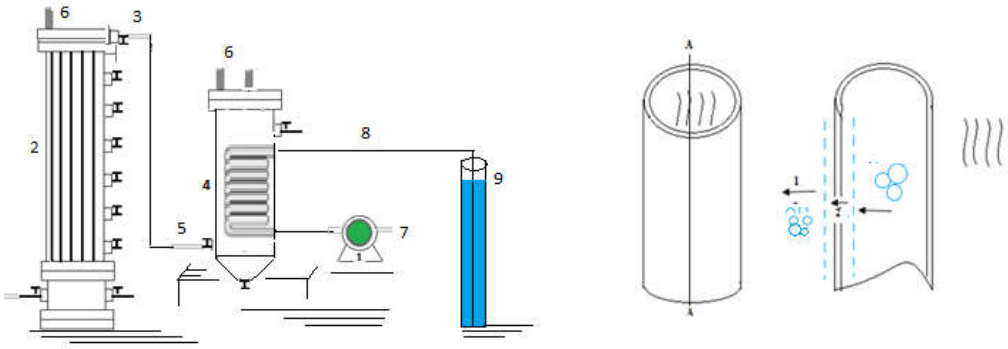

Figura 4.11**:** Sistema combinado 3 ABFSB - RMI: 1- Bomba peristáltica; 2- Reator anaeróbio de leito fixo e ordenado; 3- Reator microaerado; 4- Membrana de silicone; 5- Saída do efluente; 6- Saída de gás); 7- entrada de ar na bomba peristáltica; 8- saída de ar da membrana; 9- coluna d'água e corte transversal da membrana indicando o fluxo de oxigênio através da mesma.

Nesta configuração, a membrana tubular de silicone de 2 metros ficou submersa na unidade microaerada e a disposição da mesma foi helicoidal. Ar foi fornecido com auxilio de bomba peristáltica (Gilson, Miniplus) com fluxo de 75 $ml.min^{-1}$ a fim de manter o fluxo constante de oxigênio no interior da membrana. O uso de membrana helicoidal, pressão, e fluxo de ar foram utilizados para aperfeiçoar o reator no que tange a transferência de massa, já que o uso dessas variáveis é relatado na literatura como potencializador da transferência (Wilderer *et al.*, 1985; Moulin *et al.*, 1996; Cotter, 2010). A pressão no interior da membrana foi mantida por meio de uma coluna de água com 1,5 m, conectada à membrana resultando em uma pressão de 150 mbar no interior da mesma.

Figura 4.12: Sistema Combinado ABFSB-RMI. No detalhe o reator microaerado com membrana tubular de silicone interna ao meio líquido.

4.4.1 *Inóculo*

A imobilização do material suporte seguiu a mesma metodologia empregada para o sistema integrado ABFSB-RME (sessão 4.2.2) com inóculo de mesma procedência.

4.4.2 *Água residuária*

O sistema combinado foi alimentado com água residuária sintética complexa para simular, esgoto sanitário doméstico, apresentando uma concentração de 1000 $mgO_2.L^{-1}$ em termos de DQO, assim como os sistema integrado, apresentada na sessão 4.2.3.

4.4.3 *Operação do reator*

A operação do reator foi dividida em duas etapas, nas quais foram empregados diferentes tempos de detenção hidráulica: TDH de 5,5 h e TDH de 8,5 h na unidade microaerada. O TDH do reator anaeróbio foi mantido em 12 h. A Tabela 4.6 apresenta as condições operacionais de casa etapa. A temperatura foi mantida em 25 ± 1ºC durante todo o experimento.

Tabela 4.6: Parâmetros operacionais sistema combinado 3.

Parâmetro	**Unidade**	**Adaptação**	**Etapa 1 TDH 5,5 hrs**	**Etapa 2 TDH 8,5 hrs**
Microaeração		não	sim	sim
$DQO_{Afluente}$	$mgO_2.L^{-1}$	1000	1000	1000
$[SO_4^{2-}]_{Afluente}$	$mg\ SO_4^{2-}.L^{-1}$	500	500	500

4.5 **Estimativa do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (K_La)**

Com o objetivo de obtenção de uma variável de controle operacional, foi testada a capacidade de transferência de oxigênio em tubos de silicone de diferentes diâmetros, além do uso de membranas helicoidais. Em trabalhos anteriores (Camiloti *et al.*, 2013), o potencial para a microaeração utilizando membranas tubulares de silicone foi comprovado apresentando um coeficiente (K_La) médio de 0,15 h^{-1}. Com a comprovação da capacidade de transferência de massa a baixos fluxos, foram realizadas tentativas a fim de buscar diferentes formas de utilização das membranas que possibilitem o maior controle da aeração do sistema e promovam a conversão parcial do sulfeto a enxofre elementar.

O coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio (K_La) foi determinado para transferência de ar externa e também para transferência interna sob pressão. Para transferência de ar interna três mangueiras de silicone com diferentes diâmetros (ϕ_{int} x ϕ_{ext}) foram avaliadas: 5 x 10; 9,5 x 14,6 e 12 x 17 mm. A espessura da parede e o comprimento foram mantidos sendo 2,5 mm e 200 mm, respectivamente. O aparato experimental utilizado para as medidas é mostrado na Figura 4.12.

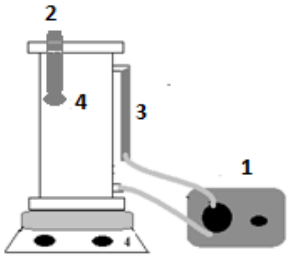

Figura 4.13: Aparato experimental para ensaio de obtenção de k_La com membrana externa e interna ao meio líquido (1- Bomba de deslocamento positivo e bomba peristáltica; 2- Sonda de oxigênio; 3- Membrana de silicone; 4- Reservatório).

O K_La foi determinado pelo método dinâmico em meio abiótico, que consiste no borbulhamento de nitrogênio no meio líquido até que se atinja concentração de oxigênio dissolvido próxima a zero. Com concentração nula, o fluxo de nitrogênio é interrompido e, imediatamente, inicia-se a aeração do meio (Atkinson & Mavituna, 1983).

As medidas de oxigênio dissolvido foram realizadas por medidor multiparâmetros digital de duplo canal da marca Hach® - modelo HQ40D, equipado com sonda de luminescência para oxigênio dissolvido LDO101. Os dados foram ajustados utilizando o software Origin Pro 8.0®.

Os ajustes são descritos por Atkinson & Mavituna (1983) e o K_La pode ser obtido por regressão linear ou não linear por meio seguintes expressões:

$$\ln\left(1-\frac{C_L}{C^*}\right) = -K_L a.t \qquad \text{(Equação 4.1)}$$

$$C_L = C^*.(1-e^{-K_L a}) \qquad \text{(Equação 4.2)}$$

Nos quais:

C*: concentração de saturação do gás no líquido; $[M].[L]^{-3}$

C_L: Concentração do gás dissolvido; $[M].[L]^{-3}$

K_La: coeficiente volumétrico global de transferência de massa; $[T]^{-1}$

Os dados de oxigênio dissolvido foram ajustados por regressão linear (Equação 4.1). Os dados utilizados foram aqueles que representaram a maior variação, desconsiderando os valores constantes e valores de baixa concentração. Os valores constantes ocorrem mais lentamente e apresentam diferença (C^*-C_L) muito pequena, causando imprecisão no cálculo do logaritmo Neperiano e baixos valores de concentração não são precisos para o cálculo (Sant'Anna Jr, 2010). O valor da concentração de saturação foi obtido experimentalmente e apresentou valor de 8,18 $mg.L^{-1}$ a temperatura constante de 25ºC.

4.6 **Análises físico-químicas**

As analises físico-químicas foram executadas, para os diferentes sistemas estudados, de acordo com os procedimentos estabelecidos no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (2005). As análises foram realizadas para as amostras afluente e efluente. Para as análises de compostos de enxofre (sulfato, tiossulfato e sulfeto) as amostras eram coletadas com seringa em um septo alocado no cabeçote do reator próximo à saída, o qual se faz importante, já que as amostras devem ser preservadas sem contato com o oxigênio a fim de evitar a oxidação e a perda dos compostos. As demais análises eram realizadas com as amostras coletadas na saída do reator.

Sulfato, Sulfito e Tiossulfato foram analisados por cromatografia iônica em cromatógrafo de íons (Dionex 5000) equipado com detector de condutividade e coluna IonPac® AS11HC *Anion-Exchange Column* e operando a uma temperatura de 30ºC. A fase móvel utilizada foi solução de carbonato de cálcio (4,5 mM) e bicarbonato de cálcio (0,8 mM) com fluxo de 1,0 mL. min^{-1}. As amostras foram acidificadas para a preservação das mesmas com 20 µL de ácido clorídrico 0,1M e posterior armazenamento a 4°C. A acidificação da amostra favorece o deslocamento de equilíbrio das formas dissolvidas do sulfeto para a forma gasosa, evitando assim que o sulfeto dissolvido seja oxidado a intermediários como tiossulfato e sulfato. Sulfeto total dissolvido foi analisado por método colorimétrico de Azul de Metileno (American Public Health Association, 2005).

Demanda Química de Oxigênio e série de sólidos foram realizados segundo STANDARD METHODS (2005). As amostras filtradas de DQO foram analisadas com a adição de sulfato de zinco em excesso a fim de eliminar a interferência do sulfeto na leitura de DQO.

A produção de gás foi medida para todos os sistemas estudados por meio de técnica de deslocamento líquido. A composição dos gases (O_2, N_2, CO_2, CH_4) do sistema combinado UASB-RMHE foi determinada em cromatógrafo de gases Clarus 580 (PerkinElmer) equipado

com detector de condutividade térmica com coluna capilar Carboxen 1000 (15ft x 1/8 in ss). A temperatura do injetor era de 200ºC, o detector de 250ºC e o forno de 120ºC O gás de arraste utilizado foi argônio. A concentração de H_2S no biogás foi determinada por sistema colorimétrico utilizando kit de tubos de detecção RAE System.

Já para o sistema combinado ABFSB-RMHS a composição dos gases (CO_2, CH_4 e H_2S) foi determinada em cromatógrafo de gases Shimatzu GC 2014AT®, equipado com detector de condutividade térmica e coluna HP-PLOT Q (30m x 0,53 mm x 40µm). A temperatura do injetor era de 160ºC, o detector de 170ºC e o forno de 170ºC.foi utilizando hidrogênio como gás de arraste.

O oxigênio dissolvido foi monitorado com sonda de medidor por luminescência Hach modelo LDO HQ10 e pH foi monitorado por método potenciométricos com eletrodo específico. Os reatores operados na Universidad de La Frontera tiveram os valores de pH monitorados online e ajustado com solução de HCl ou NaOH (1M) com vazão de 0.4 $ml.min^{-1}$. As variáveis e os métodos utilizados para as análises físico-químicas são apresentados na Tabela 4.7.

Tabela 4.7: Variáveis analisadas e métodos utilizados no monitoramento dos reatores.

Variáveis	Método	Amostragem	Frequência (vezes/semana)
Oxigênio Dissolvido	Luminecência	Efluente	2
pH	Potenciométrico	Afluente e Efluente	5
DQO	Colorímetrico	Afluente e Efluente	2
Sulfato	Cromatografia iônica	Afluente e Efluente	2
Sulfeto	Colorimétrico	Efluente	5
Tiossulfato	Cromatografia iônica	Efluente	2
Sulfito	Cromatografia iônica	Efluente	2
O_2, CH_4 e CO_2	Cromatografia gasosa	Efluente	2
H_2S	Colorimétrico	Efluente	2

4.7 Análise elementar e EDX

Análise elementar e de difração de Raio-X foram realizadas a fim de confirmar a presença de enxofre nos materiais formados nas membranas de silicone.

Para o sistema integrado ABFSB-RME, amostras aderidas na parede da membrana tubular de silicone foram extraídas e secas a 103°C para posterior análise de difração de raio-

X em um difratômetro Siemens D5005 usando uma radiação de Cu K-α, voltagem de 40 kV e corrente de 30 mA, o qual foi realizado no Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de São Carlos.

Já para o sistema combinado UASB-RMHE foi analisada somente a porcentagem de enxofre elementar na biomassa formada no interior da membrana tubular e a mesma foi determinado por meio de analisador elementar EuroEA 3000 Elemental Analyser (EuroVector, Milano, It). O gás de arraste foi o Hélio e a pressão final foi de 120 KPa. As amostras foram pesadas em uma microbalança Sartorius CP2P, (Goettingen, GER) e tiveram peso aproximado de 1,5 mg. A combustão da amostra foi a 1000 ºC com a pressão de 35 Kpa e o tempo de 11 s. A temperatura final do forno foi de 90 ºC. O sinal do detector foi processado no Callidus 4.1.21 software (EuroVector, Milano). As amostras foram secas a 95ºC, maceradas, homogeneizadas e posteriormente analisadas no Departamento de recursos Naturales da Universidad de La Frontera- Temuco, Chile.

Finalmente, para o sistema combinado ABFSB-RMHS, as amostras coletadas na parede externa da membrana tubular forma coletadas, secas a 103ºC, maceradas e homogeneizadas e a análise semiquantitativa para a confirmação da presença de enxofre foi realizada por meio de Análise de Energia Dispersiva por raios-X (EDS). A mesma foi realizada em um equipamento EDX LINK ANALYTICAL, (Isis System Series 200), com detector de SiLi Pentafet, janela ultrafina ATW II (Atmosphere Thin Window), de resolução de 133eV à 5,9keV e área de 10mm quadrado, acoplado a um Microscópio Eletrônico LEO 440 (Cambridge, Inglaterra). Utilizou-se padrão de Co para calibração, feixe de elétrons de 20 kV, distância focal de 25 mm, dead time de 30%, corrente de 2,82A e I probe de 950pA. A análise é considerada semiquantitativa já que a porcentagem dos elementos é dada por área da amostra analisada (4,0mm^2), a qual é feita em triplicata.

4.8 **Microscopia**

Para a confirmação da presença de microrganismos aderidos a paredes da membrana, foram realizados ensaios de microscopia das amostras. A microscopia óptica de contraste de fase e fluorescência foi realizada em microscópio óptico Olympus, modelo BX60-FLA e sistema de captura de imagens Image Pro-Plus.

CAPÍTULO 5

"Pouco conhecimento faz com que as pessoas se sintam orgulhosas. Muito conhecimento, que se sintam humildes. É assim que as espigas sem grãos erguem desdenhosamente a cabeça para o Céu, enquanto que as cheias as baixam para a terra, sua mãe."
Leonardo da Vinci

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Membranas Tubulares de silicone: Capacidade de transferência de oxigênio

5.1.1 *Ensaios de transferência de massa*

Ensaios com diferentes diâmetros foram realizados a fim de comprovar a hipótese levantada (sub-hipótese 1), que se refere à alteração da transferência por meio da alteração do raio da membrana, na qual o aumento da capacidade de transferência se daria com a redução do raio do tubo (Equação 5.1). Os tubos testados apresentavam diâmetros externos de 10; 14,6 e 17 mm e a dos coeficientes volumétrico de transferência de massa (K_La) obtidos para cada diâmetro testado foi de 0,079; 0,093 e 0,118 h^{-1}. A Tabela 5.1 sumariza os valores obtidos e as Figuras 5,1, 5.2 e 5.3 apresentam os gráficos referentes às duplicatas de cada ensaio.

$$a = \frac{Al}{Vmemb} \quad \rightarrow a = \frac{2\pi RL}{\pi R^2 L} = \frac{2}{R} \qquad \text{(Equação 5.1)}$$

A*l:* área da parede da membrana;

V_{memb}: volume da membrana.

Tabela 5.1: Valores dos coeficientes (K_La) para cada diâmetro externo avaliado.

Diâmetro externo (mm)	**K_La** (h^{-1})	**Média** (h^{-1})
10,0	0.079	0.0795
	0.080	
14,6	0.085	0.093
	0.100	
17,0	0.117	0.118
	0.119	

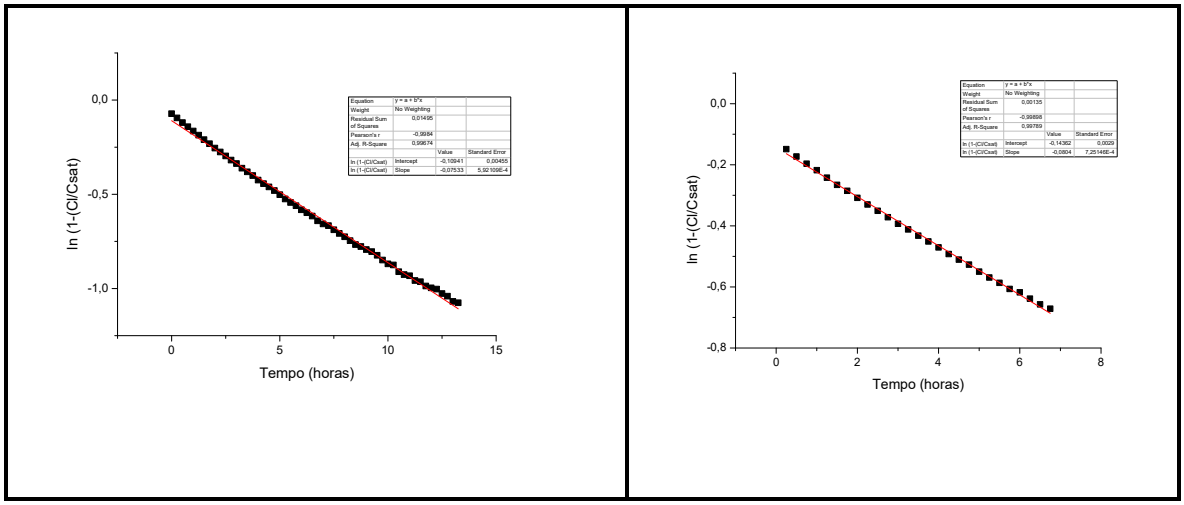

Figura 5.1: Ajuste das curvas de concentração de OD para obtenção do K_La para a membrana de diâmetro externo de 10 mm.

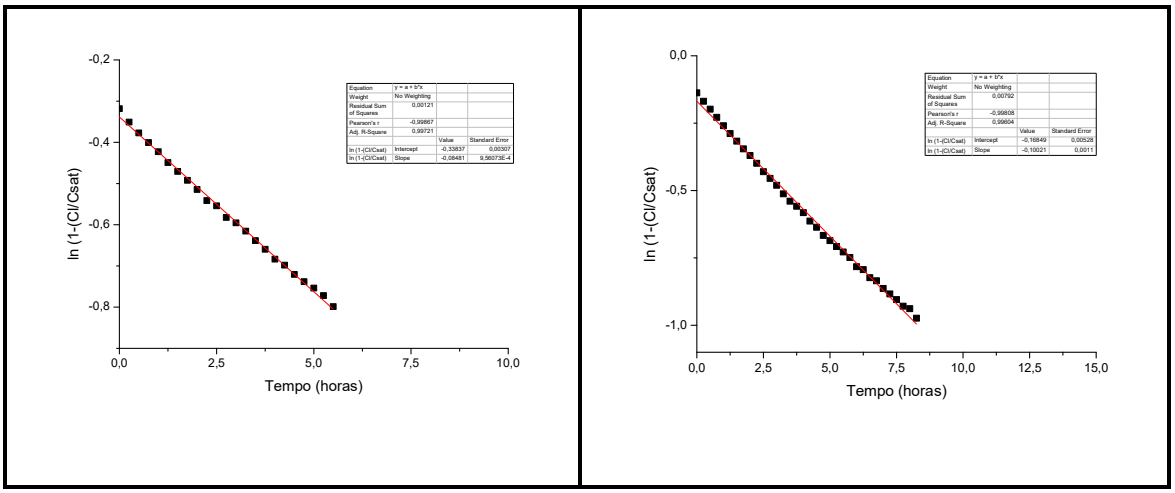

Figura 5.2: Ajuste das curvas de concentração de OD para obtenção do K_La para a membrana de diâmetro externo de 14,6 mm.

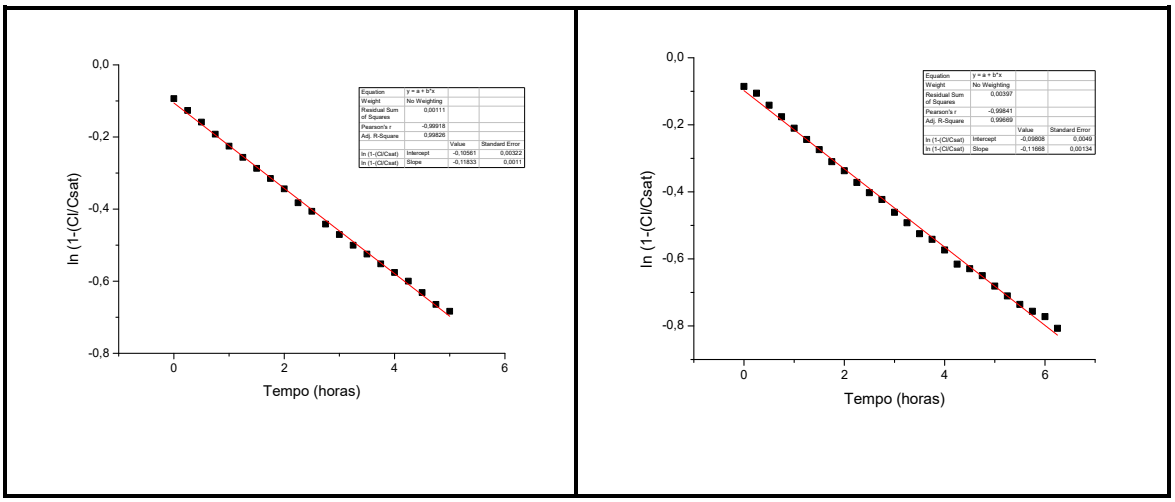

Figura 5.3: Ajuste das curvas de concentração de OD para obtenção do K_La para a membrana de diâmetro externo de 17,0 mm.

O teste ANOVA (Apêndice B.1), para comparação das médias obtidas nos ensaios, foi realizado com intervalo de 5% de significância e a hipótese de igualdade entre as médias dos ensaios foi refutada, demonstrando que a alteração do diâmetro nas faixas estudadas alterou o processo de transferência de massa. Entretanto, os valores não seguiram a tendência esperada de aumento da transferência pela redução do raio da membrana (Tabela 5.1). Esse comportamento pode ser explicado por outra teoria, a teoria das resistências em série, apresentado por Côte *et al.* (1989), que descreve a espessura da parede de membranas tubulares como a principal responsável pela resistência à transferência de oxigênio.

O modelo de resistência em serie propõe que a resistência global à transferência de massa é a soma resistência à difusão na membrana, da resistência no filme líquido e no filme gasoso, como mostrado na Equação 5.2:

$$\frac{1}{R} = \frac{1}{K_M} + \frac{1}{K_G} + \frac{1}{K_L} \qquad \text{(Equação 5.2)}$$

Em que:

K_M é o coeficiente de transferência de massa na membrana;

K_G é o coeficiente de transferência de massa no filme gasoso;

K_L é o coeficiente de transferência de massa no filme liquido;

Como reportado (Coté *et al.,*1989), a resistência proporcionada pelo filme gasoso pode ser negligenciada nesta situação, desde que $1/K_G << 1/K_L \sim 1/K_M$. A resistência dada pela difusão na membrana é dada em função da permeabilidade e da espessura de parede e pode ser expressa por (Equação 5.3)

$$\frac{1}{K_M} = \frac{\tau_e}{P \cdot H} \qquad \text{(Equação 5.3)}$$

Em que:

$\tau_{e:}$ espessura da membrana, para membranas tubulares ocas;

P: permeabilidade da membrana;

H: constante de Henry.

Em Camiloti (2012), a influência da alteração do filme líquido na transferência de massa foi estudada e também foi observado que o filme líquido não influenciava na transferência, e que o mecanismo também pode ser explicado pela teoria das resistências em série. A alteração do filme líquido foi verificada em uma membrana de 8,0 x 12,8 mm de diâmetro interno e externo e 2,4 mm de espessura por meio da aplicação de diferentes valores

de fluxo no interior da membrana. A alteração no fluxo foi considerada uma variável operacional e foi denominada de velocidade superficial aplicada no interior da membrana (V_s), os quais foram 9,3; 37,3 65,3 $m.h^{-1}$. De posse da equação 5.2, a contribuição individual de cada resistência pode ser obtida, e então, a resistência devido ao filme liquido pôde também ser acessada. A Tabela 5.2 apresenta os valores das resistências individuais para cada vazão de líquido aplicada.

Tabela 5.2: Valores das resistências individuais para cada vazão de líquido aplicada.

V_S ($m.h^{-1}$)	Global $1/R$ ($s.m^{-1}$)	Membrana $1/K_M$ ($s.m^{-1}$)	Filme Líquido $1/K_L$ ($s.m^{-1}$)
9,3	69172,68	192355,9086	-123183
37,3	70301,37	192355,9086	-122055
65,3	58222,57	192355,9086	-134133

Considerando as condições de ensaio e um valor padrão de permeabilidade ($2,01x10^{-13}$ $mol.m^{-1}.s^{-1}.Pa^{-1}$) para membranas de silicone (dimensões não especificadas), apresentado por Robb (1965), foi possível obter valores de cada resistência e observar que a resistência na membrana é a maior responsável pela resistência à transferência de massa. Para o cálculo da resistência oferecida pela membrana ($1/K_M$) (Equação 5.3) foram usadas as dimensões da membrana utilizada no trabalho para o cálculo de τ_e e o dado de permeabilidade foi baseado na literatura. Provavelmente, devido a essa incoerência nos valores, o valor de resistência à membrana pode ter sido superestimado ultrapassando o valor da resistência global, resultando em valores negativos para a resistência liquida.

Desta forma, é possível observar que, para membranas tubulares com espessura acima de 2,4 mm a principal resistência à transferência está na espessura da parede, ou seja, a alteração do fluxo no interior da membrana ou a alteração no diâmetro da mesma não podem ser utilizadas como variáveis de controle do processo. Entretanto, a espessura da membrana pode representar uma importante variável operacional para a microaeração do meio.

Com base nos resultados apresentados e na revisão da literatura, as maneiras encontradas para maior controle da transferência de massa estariam na utilização de membranas com menor espessura ou na utilização de membranas helicoidais com transferência de oxigênio interna. Entretanto, a utilização de membranas com menor espessura inviabilizaria seu uso nos sistemas devido à facilidade de oclusão das mesmas, já que, para os tubos comerciais quanto menor a espessura da parede menor o diâmetro da membrana. Desta forma, com exceção do sistema integrado ABFSB-RME, os demais sistemas foram estudados com a disposição helicoidal da membrana.

5.1.2 *Conclusões parciais e implicações práticas*

Os resultados de transferência de massa obtidos para membranas de diferentes diâmetros não validam a sub-hipótese 1, já que os valores não seguiram a tendência esperada de aumento da transferência pela redução do raio da membrana.

Entretanto, a transferência de massa pode ser explicada pela teoria das resistências em série, que descreve a espessura da parede de membranas tubulares como a principal responsável pela resistência à transferência de oxigênio. Portanto, como forma de controle operacional do sistema para o aumento da velocidade de transferência é preciso reduzir a espessura da mesma.

5.2 Sistema Integrado ABFSB-RME: Biorreator Anaeróbio de Leito Fixo e Ordenado (ABFSB) com membranas de silicone externa ao meio líquido (RME).

O sistema integrado ABFSB-RME foi estudado a fim de avaliar a remoção de compostos de enxofre em reator anaeróbio com unidade microaerada por membrana de silicone, a qual permanecia externa ao meio líquido. Além do estudo das remoções dos compostos sulfurosos, foi avaliado o processo de transferência de oxigênio em membranas com diferentes diâmetros, como forma de controle do processo, além da alteração da configuração do reator, como diferentes tempos de detenção hidráulica (TDH)- Etapa I e presença de material suporte na unidade microaerada de membrana externa (RME)- Etapa II.

5.2.1 *Monitoramento do Sistema Integrado ABFSB – RME –Etapa I*

O sistema integrado ABFSB - RME foi operado durante 271 dias, sendo que o mesmo foi operado 64 dias com TDH total de 16 h, 48 dias com TDH total de 18 h e 87 dias com TDH total de 22,5 h. O TDH no reator anaeróbio foi mantido fixo no reator anaeróbio em 13 h e variado no RME. A adaptação da biomassa ocorreu nos primeiros 40 dias iniciais e a remoção e matéria orgânica e sulfato foi estável durante toda a operação. A remoção do sulfeto foi também observada em todas as etapas de operação, embora de forma instável, com a formação visual de enxofre elementar nas paredes da membrana no RME.

A remoção de sulfato na unidade anaeróbia foi em média de 77,1% para as três etapas testadas. De maneira geral, as duas últimas etapas de operação (a partir do dia 105) apresentaram maiores valores de remoção de sulfato, provavelmente devido à adaptação da biomassa. A Figura 5.4 apresenta os valores de remoção de DQO e sulfato para do sistema combinado e a Tabela 5.3 apresenta os valores médios de monitoramento do sistema combinado (dia 41 a 271). Os parâmetros analisados são referentes ao efluente de cada unidade (ABFSB e RME). A eficiência de DQO foi calculada com os dados sem a interferência do sulfeto e foi estável durante toda operação com média de remoção para todas as etapas estudadas de 86,4 ± 0,16%, do qual, em média 30,6 ± 5,5% da remoção total de matéria orgânica foi realizada via sulfetogênese. A remoção de matéria orgânica no compartimento microaerado também foi avaliada, porém não houve remoção significativa.

Tabela 5.3: Resultados médios obtidos durante o monitoramento do sistema ABFSB-RME –Etapa I

Parâmetro	Fase I - TDH 16,0 hrs		Fase II - TDH 18,0 hrs		Faese III - TDH 22,5 hrs	
	ABFSB	RME	ABFSB	RME	ABFSB	RME
Rem. DQO (%)	86,5 ± 8,4	----	86,3 ± 5,4	----	86 ± 10,5	----
Rem. Sulfato(%)	61,7 ± 8,7	----	81,3 ±12,3	----	88,4± 5,7	----
Rem. Sulfeto (%)	------	18,6± 21,95	------	11,7 ± 11,6	------	10,6 ± 10,4
Média Conc. Sulfeto (%)	50,3	42,8	75,5	67,2	65,5	61,2
Mediana Conc. Sulfeto (%)	49,9	44,6	81,0	72,1	64,6	59,1
COV (g. L^{-1}. dia^{-1})	0,75 ± 0,2		0,56 ± 0,1		0,32 ± 0,1	
CSV (g. L^{-1}. dia^{-1})	------	0,3 ± 0,09	------	0,28 ± 0,05	------	0,13 ± 0,02
TDH Total	14,3 ± 1,3	3,3 ± 0,3	14,8 ± 1,0	5,7 ± 0,4	16,1 ± 1,3	11,6 ± 0,9

COV: carga orgânica volumétrica
CSV: carga volumétrica de sulfeto Total Dissolvido

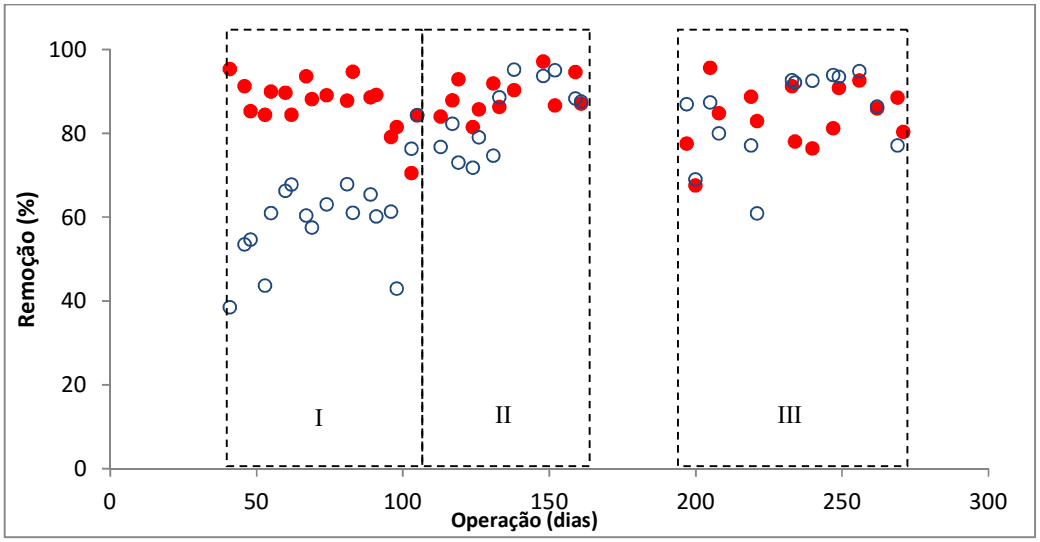

Figura 5.4: Remoção de sulfato (○) e matéria orgânica (●) durante a operação do sistema integrado ABFSB – RME para cada TDH testado: (I) TDH de 16 h (18 amostras); (II) TDH de 18 h (12 amostras) e (III) TDH de 22,5 h (16 amostras).

A remoção de sulfeto total dissolvido (STD) foi observada em toda a operação do sistema, porém grande variação nas porcentagens de remoção foi observada nas três etapas estudadas, atingindo remoção máxima de 80%. A Figura 5.5 apresenta os gráficos *Box-plot* da distribuição da concentração de sulfeto nas duas unidades do sistema combinado para os três TDH testados. A distribuição da concentração de sulfeto foi avaliada nas duas unidades a fim de verificar o comportamento do mesmo na unidade microaerada e, ao comparar a mediana das amostras (Tabela 5.3), é possível observar que esta é maior na unidade anaeróbia em

relação à unidade microaerada para os três TDH testados, evidenciando a capacidade de remoção de sulfeto.

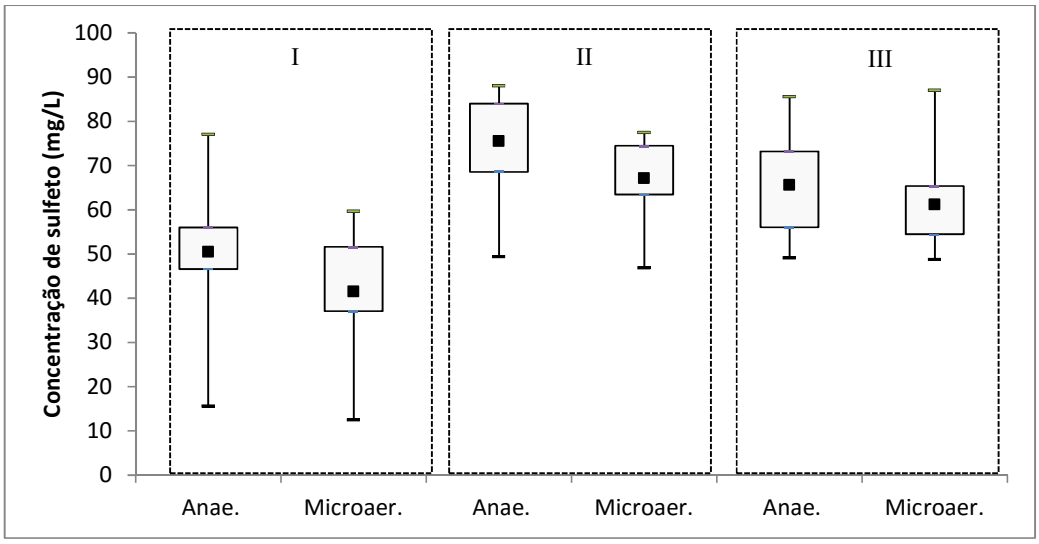

Figura 5.5: Gráfico Box-plot da concentração de sulfeto na saída da unidade anaeróbia e microaerada do sistema integrado ABFSB – RME para cada TDH testado: (I) TDH de 16 h (18 amostras); (II) TDH de 18 h (12 amostras) e (III) TDH de 22,5 h (16 amostras).

A representação *box-plot* é uma ferramenta que possibilita a visualização da distribuição dos pontos amostrados, apresentando no *box* a mediana (50%), o primeiro quartil (25%) e o terceiro quartil (75%), além dos pontos máximos e mínimos. A representação também nos traz informações com respeito à heterogeneidade da amostra, na qual quanto maior a altura do *box* mais heterogênea é a mesma e consequentemente maior o desvio padrão. Outro aspecto a ser observado são os valores de média e mediana. Como a média é uma redistribuição dos valores, se a amostra é discrepante a média pode não representar bem o grupo, já a mediana traz como resultado o centro da distribuição dos dados. Tanto na comparação das médias quanto da mediana, as maiores diferenças encontradas entre as unidades ABFSB e RME são para os TDH de 16 e 18 horas, demonstrando maior remoção de sulfeto para essas condições.

É possível então observar a partir do gráfico *box-plot a* grande heterogeneidade das concentrações de sulfeto na saída das unidades ABFSB e RME, principalmente no reator microaerado, indicando a instabilidade na remoção de sulfeto. Essa instabilidade foi associada à redução na capacidade de aeração pela formação e fixação de enxofre elementar nas paredes da membrana. No início da operação, após o 12º dia, foi observada a redução da remoção de sulfeto, porém também foi observada a formação de enxofre elementar nas paredes da

membrana, sugerindo a queda na capacidade de transferência de massa na membrana. Após a constatação na queda da capacidade de remoção de sulfeto do sistema, foi efetuada a troca das membranas quando era constatada a redução total da capacidade de transferência de massa. A troca foi realizada em períodos de 2, 7 e 15 dias. O período de troca foi variável já que a mesma era realizada somente quando a remoção de sulfeto era cessada.

A conclusão com respeito à influência do TDH na remoção do sulfeto foi mascarada pela periodicidade da troca das membranas, o que levou a instabilidade na remoção de sulfeto durante todo o período. Por meio da Figura 5.6 é possível também observar a instabilidade dos dados principalmente da unidade microaerada, para a qual se esperaria baixos valores de concentração de sulfeto. No entanto, os valores oscilam entre concentrações ligeiramente inferiores e até mesmo superiores em relação à unidade anaeróbia. É possível, também, observar as baixas remoções de sulfeto, com somente alguns pontos superiores a 50% para a fase I. As demais fases não apresentaram nenhum ponto com remoção superior a 50%.

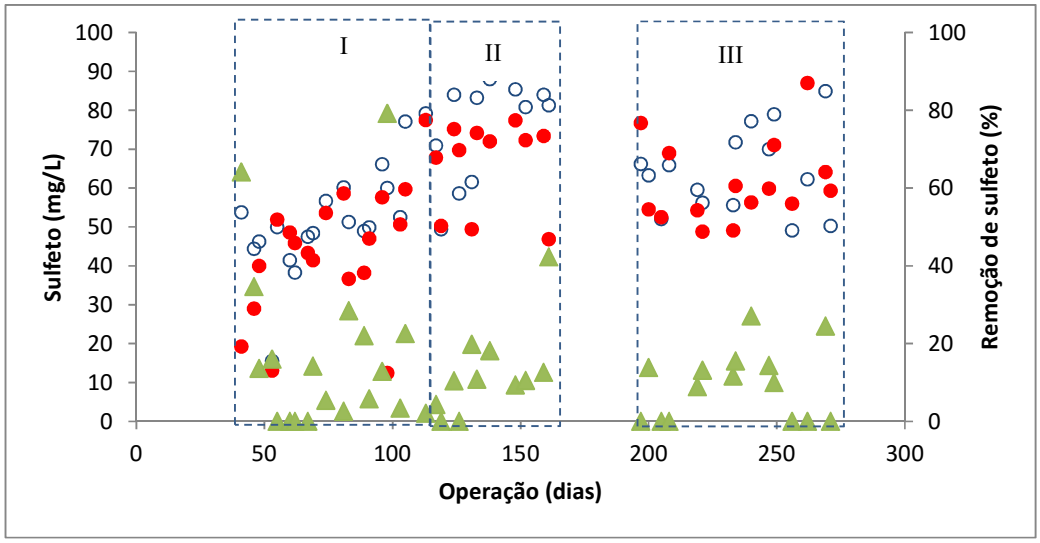

Figura 5.6: Concentração de sulfeto na saída do ABFSB (○) e do RME (●) e eficiência de remoção de sulfeto (▲) para cada TDH testado: (I) TDH de 16 h (18 amostras); (II) TDH de 18 h (12 amostras) e (III) TDH de 22,5 h (16 amostras).

A fim de facilitar a visualização da influência do TDH na conversão do sulfeto a enxofre, o balanço dos compostos sulfurosos foi realizado. Por meio da concentração de cada composto de enxofre em cada corrente e sua respectiva vazão volumétrica, foi determinada a carga de cada composto e, assim, o balanço total de enxofre. Os dados apresentados na Tabela 5.4 mostram as médias de carga afluente e efluente para os compostos de enxofre assim como a somatória dos compostos que saíram do sistema. Os valores de saída superiores a 100% indicam geração de compostos de enxofre no reator e justificam a necessidade da troca

sistemática das membranas do sistema, pois o aporte pode ter se dado por meio da utilização do enxofre já formado anteriormente na membrana, o qual pode ser reoxidado a intermediários como tiossulfato e sulfato, ou ainda, reduzido a sulfeto.

Tabela 5.4: Cargas e balanço dos compostos de enxofre durante a operação do sistema integrado ABFSB –RME.

Etapas		Afluente ($mgS.L^{-1}.dia^{-1}$)	Efluente ($mgS.L^{-1}.dia^{-1}$)				Total %	
		$S\text{-}SO_4^{2-}$	$S\text{-}SO_4^{2-}$	$S\text{-}S^{2-}_{\text{effl.}}$	$S\text{-}S^{2-}_{\text{biog.}}$	$S\text{-}S_2O_3^{2-}$	Total	Lacuna*
Etapa	I	114,2 ± 23,8	45,7 ± 14,5	50,3 ± 20,3	0,4 ± 0,3	4,9 ± 3,1	89,1	10,9
	II	105,3 ± 31,2	19,4 ± 10,9	77,6 ± 17,0	0,5 ± 0,4	6,0 ± 6,1	101,8**	0
	III	41,7 ± 21,5	6,7 ± 4,6	41.1 ±12.8	0,2 ± 0,1	3,7 ± 5,0	134,2**	0

* Lacuna: Fração da concentração de sulfeto inicial que não foi recuperado na forma de tiossulfato ou sulfato.

**Porcentagem acima de 100% indica o aporte de composto de enxofre.

Alguns pontos do monitoramento podem ser elencados a fim de comprovar o aporte de compostos de enxofre na saída do sistema, a saber, o aumento nas concentrações de tiossulfato e a queda da fração de compostos de enxofre mensurados na saída logo após a troca da membrana. O aumento da concentração de tiossulfato pode estar relacionados à reação do sulfeto com o enxofre produzido previamente, o que levou a produção de polissulfetos e tiossulfato. Pokasoowan et al, (2009), estudaram a remoção do sulfeto em um reator airlift e observaram que a partir do 80º dia houve queda na produção de enxofre enquanto a conversão do sulfeto a sulfato e intermediários aumentou. Os autores relatam que o enxofre depositado na célula reduz a área de contato entre a bactéria, e o enxofre, por sua vez, pode reagir com o sulfeto e o oxigênio, produzindo assim os intermediários. Análise de pirosequenciamento realizadas por Garcés et al (dados não publicados) comprovaram a presença de bactérias oxidadoras de sulfeto nas formações de enxofre na membrana de silicone, assim como relatos da literatura (Díaz *et al.*, 2011) evidenciaram a presença dos mesmos na parede do reator. As equações 5.4 e 5.5 demonstram a reação do sulfeto com o enxofre produzindo polissulfetos e tiossulfato e a equação 5.6 demonstra a reação do enxofre com o oxigênio, o que pode ter ocorrido logo após os longos períodos de uso da membrana. A Figura 5.7 apresenta as concentrações de tiossulfato e porcentagem de sulfeto convertido a enxofre elementar. A conversão de sulfeto a enxofre elementar foi medido indiretamente pela fração de compostos de enxofre que entrou no sistema e não foi medido na saída do mesmo. Por meio da Figura 5.7 também é possível observar que, para as maiores concentrações de tiossulfato há menores valores de conversão de sulfeto a enxofre.

Já a queda da fração de compostos de enxofre mensurados na saída pode ser observada logo após a troca da membrana (Figura 5.8), nos quais os pontos em vermelho apresentados no gráfico dizem respeito a pontos de análise realizados com novas membranas. Tais pontos, principalmente para a fase I e II, apresentaram percentual de compostos de enxofre na saída do sistema abaixo dos 100% com diferença média de 14,3 ± 11,1%. É possível também observar que logo após a troca da membrana há o aumento no valor da fração total dos compostos, ou seja, possivelmente o enxofre formado anteriormente reage com outros compostos formando intermediários e configurando novo aporte de compostos. A conversão biológica do enxofre foram relatadas por Tichy et al. (1998), os quais observaram a conversão de 35 a 40% do enxofre formado em um reator de células suspensas. A mesma observação foi relatada por Janssen et al. (1995) em um reator de batelada alimentada. Os autores também relatam a dificuldade em evitar a conversão biológica do enxofre formado, a menos que estratégias de operação sejam aplicadas, No caso dos sistemas que utilizam membranas, a troca e a posterior lavagem das mesmas para recuperação do enxofre são medidas eficientes para evitar a perda do enxofre elementar.

$$HS^- + (x-1)S^0 \rightarrow S_x^{2-} + \mathrm{H}^+ \qquad \text{(Equação 5.4)}$$

$$S_x^{2-} + 1.5O_2 \rightarrow S_2O_3^{2-} + (x-2)S_0 \qquad \text{(Equação 5.5)}$$

$$2S_0 + 3O_2 \rightarrow 2SO_4^{2-} + 2\mathrm{H}^+ \qquad \text{(Equação 5.6)}$$

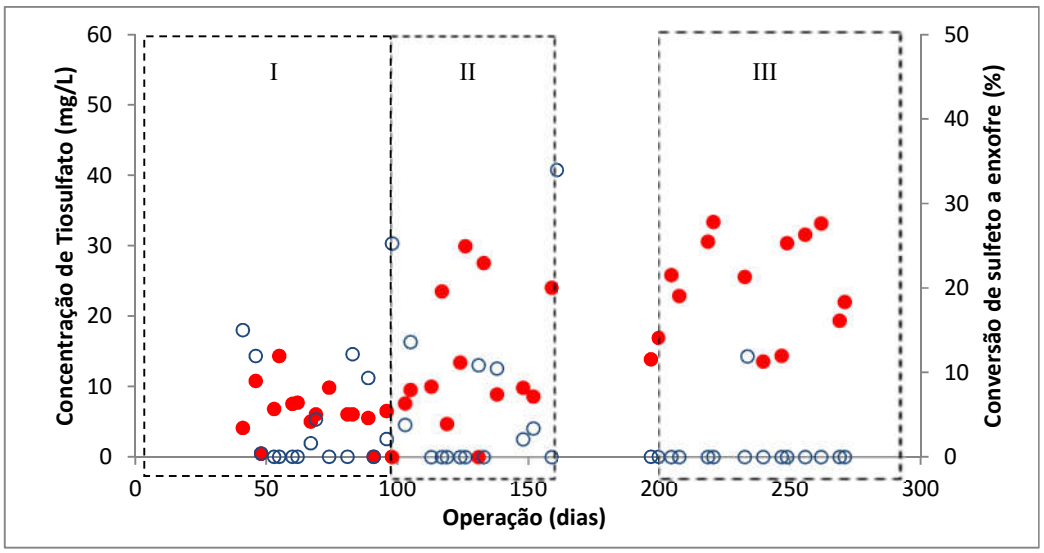

Figura 5.7: Concentração de tiossulfato (●) e porcentagem de sulfeto convertido a enxofre elementar (○) no sistema integrado ABFSB – RME para cada TDH testado: (I) TDH de 16 h (18 amostras); (II) TDH de 18 h (12 amostras) e (III) TDH de 22,5 h (16 amostras).

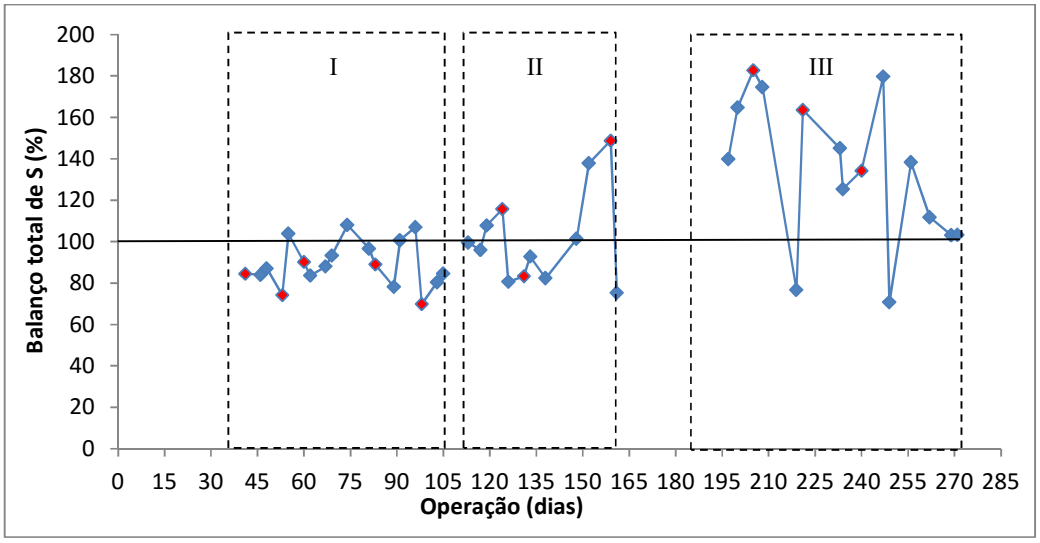

Figura 5.8: Dados do balanço final dos compostos de S do sistema integrado ABFSB – RME para cada TDH testado: (I) TDH de 16 h (18 amostras); (II) TDH de 18 h (12 amostras) e (III) TDH de 22,5 h (16 amostras). Os pontos em vermelho se referem à primeira análise após a troca da membrana.

A influência do TDH pode ser inferida, além das médias de remoção de sulfeto, pela conversão do sulfeto na unidade microaerada, os quais apresentaram melhores resultados para as fases I e II. A Figura 5.9 apresenta as conversões dos compostos na unidade microaerada, os quais foram: a oxidação do sulfeto produzido no reator anaeróbio a sulfato e a conversão do sulfeto a enxofre, estimado pela diferença entre a somatória dos compostos de entrada e saída do sistema. A oxidação do sulfeto a sulfato foi verificada nas três fases, porém a mesma foi superior na fase III (36,7%), enquanto que nas fases I e II a oxidação apresentou média de 14,3% e 12,5%, respectivamente. A oxidação pode ter ocorrido devido ao maior tempo de reação imposta ao sistema, promovendo assim a oxidação do enxofre, aderido tanto nas membranas quanto nas paredes do reator, a sulfato. Outra reação possível no sistema seria a redução do enxofre a sulfeto, o que explicaria o aumento da concentração de sulfeto na unidade e a consequente queda nas porcentagens de remoção. As reações mencionadas explicariam as porcentagens acima de 100% apresentados na Tabela 5.4, verificada principalmente na fase III (Figura 5.9). Na Figura 5.9 é possível também observar que as fases I e II apresentaram maiores porcentagem de remoção de sulfeto. É necessário ressaltar que, o gráfico em barras não representa a somatória dos compostos, já que apresenta, além da conversões dos compostos na unidade microaerada, a remoção total de sulfato e sulfeto pelo sistema. Desta forma, as evidências apresentadas levam a conclusão de que, mesmo com a influência da periodicidade da troca das membranas, TDH elevados (superiores a 6 h na

unidade microaerada) podem ser prejudiciais ao sistema no que tange a conversão do sulfeto a enxofre elementar.

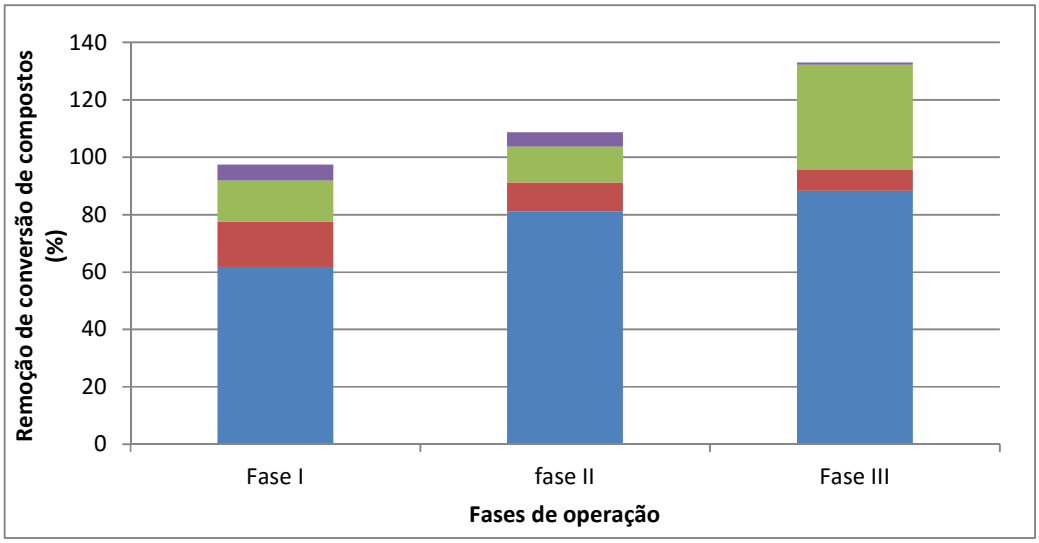

Figura 5.9: Remoção de sulfato (■) e sulfeto (■) do sistema integrado e conversão de sulfeto a sulfato (■) e de sulfeto a enxofre elementar (■) na unidade microaerada. para cada TDH testado: (I) TDH de 16 h, (II) TDH de 18 h e (III) TDH de 22,5 h.

Considerando que a troca das membranas foi essencial para a recuperação da eficiência do sistema integrado, a conversão dos compostos foi estudada com base no período de troca. A remoção de sulfeto apresentou média de 17,2 ± 3,4% considerando os três períodos de troca da membrana, sendo que a maior média de remoção foi verificada para o período de 2 dias de troca (20,6 ± 11,4%). O período de dois dias também apresentou maior conversão do sulfeto a enxofre e menor conversão a sulfato. A baixa conversão a sulfato indica a eficiência do sistema no que tange à transferência de massa, já que o oxigênio transferido não foi suficiente para a conversão total do sulfeto a enxofre elementar. Portanto, a troca da membrana possibilitou não só a recuperação do sistema como também evitou a conversão do enxofre produzido a outros intermediários. A Figura 5.10 apresenta a conversão do sulfeto na unidade microaeróbia.

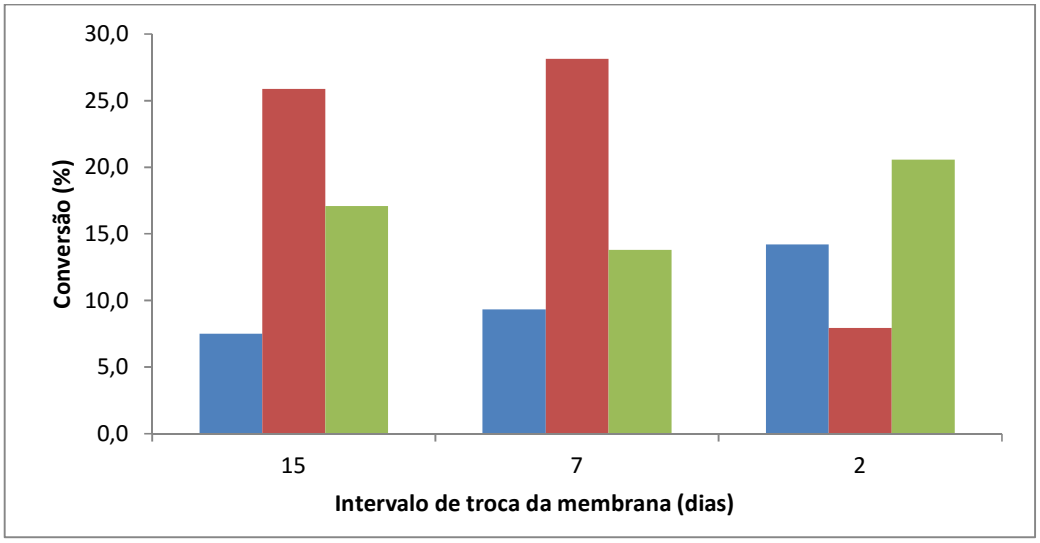

Figura 5.10: Porcentagem de conversão de sulfeto para cada período de troca de membrana . Conversão do sulfeto a enxofre (■), do sulfeto à sulfato (■) e remoção de sulfeto (■).

Apenas por observação visual, foi verificada a formação de enxofre elementar com coloração amarelada nas paredes da membrana (Figura 5.11) e por meio de análise de difração de raio-x foi possível confirmar a formação do mesmo. Janssen et al. (1996) relatam que a diferença visual entre o enxofre formado química e biologicamente está na coloração, sendo que o enxofre biologicamente produzido apresenta coloração amarelo palha. A Figura 5.12 apresenta os resultados de comparação do enxofre retirado da membrana e de uma amostra de enxofre comercial.

.

Figura 5.11: Membrana utilizada no sistema combinado 1 com a formação de enxofre elementar no interior da mesma em comparação a uma membrana limpa.

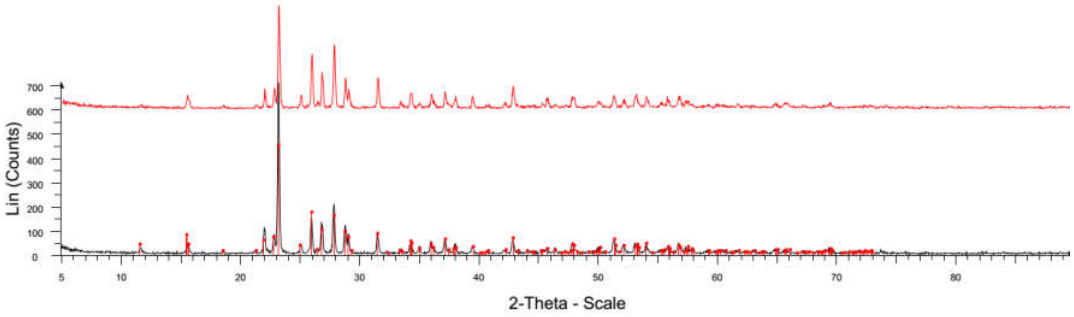

Figura 5.12: Comparação dos resultados de análise de difração de raio-x entre a amostra de enxofre comercial (—) e enxofre extraído do interios da membrana (—). Os pontos em vermelhos se referem aos picos de S^8.

5.2.2 *Avaliação do efeito da presença de material suporte na unidade microaeróbia na remoção de sulfeto- Etapa II*

O sistema integrado ABFSB-RME foi operado por 142 dias, em uma segunda etapa, com as mesmas condições da Etapa I- fase I, porém, com a presença de material suporte na unidade microaerada. Na etapa II foram testadas duas fases, nas quais o material suporte utilizado foi inoculado previamente com biomassa anaeróbia para posterior adaptação dos microrganismos e desenvolvimento de bactérias oxidadoras de sulfeto (Fase II-I) e a (Fase II-II) na qual o material suporte foi colocado sem inoculação prévia na unidade microaerada. A média de remoção de sulfeto, considerando as concentrações de STD produzidos pelo reator anaeróbio e oxidados no reator microaerado, foi, para as duas fases, de 17,6%, e 0,5%, respectivamente, apresentando remoção máxima de 91% na fase II-I. A remoção de DQO não sofreu alteração significativa entre a saída do reator anaeróbio e saída do reator microaerado, já apresentando alta eficiência na remoção anaeróbia. A Tabela 5.5 apresenta o resumo dos principais resultados para a segunda etapa.

Tabela 5.5: Resultados médios obtidos durante o monitoramento do sistema ABFSB-RME –Etapa II

Parâmetro	Fase I – MS inoculado		Fase II – MS autoinoculado	
	ABFSB	RME	ABFSB	RME
Rem. DQO (%)	92,0 ± 7,5	---	91,7 ± 4,5	---
Rem. Sulfato(%)	80,9 ± 9,7	---	91,1 ± 3,2	---
Rem. Sulfeto (%)	------	17,6± 31,2	------	0,5 ± 1,6
Média Conc. Sulfeto ($mg.L^{-1}$)	55,3	51,4	48,7	54,2
Mediana Conc. Sulfeto ($mg.L^{-1}$)	59,2	53,2	56,1	61,5
TDH	17,3 ± 1,7		19,0 ± 3,1	

Foi observado, na segunda etapa, o mesmo comportamento observado na Etapa I. A remoção do sulfeto foi dependente da troca das membranas, já que, a concentração de sulfeto no reator microaerado apresentava queda após a troca da membrana. Quanto às concentrações de sulfeto, é possível observar, por meio do da altura das caixas do gráfico *Box-plot* (Figura 5.13), a heterogeneidade dos dados e a pequena diferença entre as medianas, sugerindo a baixa remoção de sulfeto. A variação dos dados é ainda maior para as amostras da saída do RME na fase II, evidenciando a instabilidade na remoção de sulfeto.

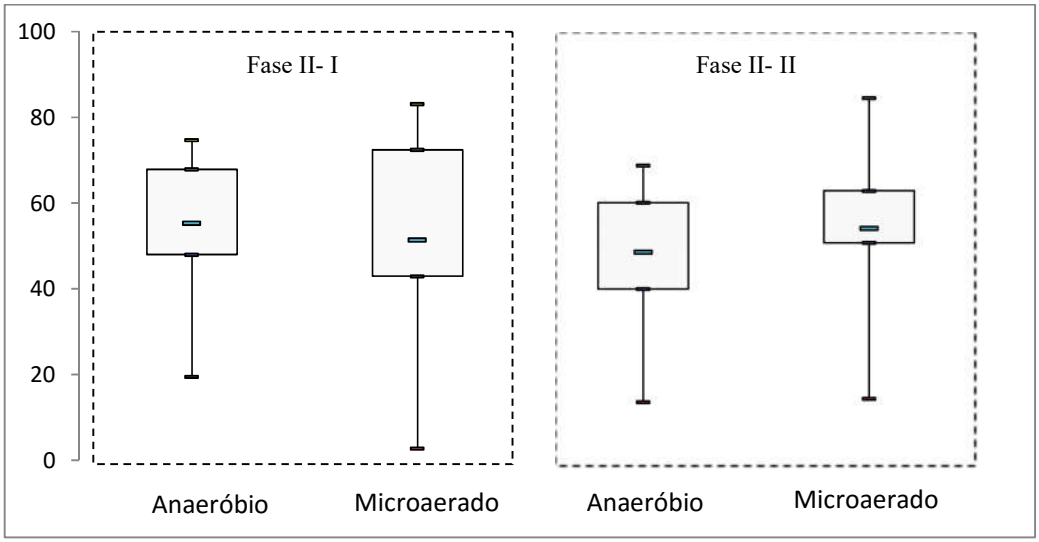

Figura 5.13: Gráfico Box-plot da concentração de sulfeto na saída da unidade anaeróbia e microaerada do sistema integrado ABFSB – RME para a Fase II-I com a presença de material suporte inoculado e para a fase (II-II) com material suporte sem inoculação.

Era esperado que a biomassa anaeróbia, utilizada para inocular o material suporte na primeira condição, pudesse promover a redução do sulfato até a adaptação dos microrganismos sulfeto oxidante. Entretanto, foi verificada a produção de sulfato em alguns pontos e a remoção de sulfeto não foi estabelecida. Na fase II-I, a remoção do sulfeto foi verificada em 8 de 18 amostras e houve produção de sulfeto em 7 dos 10 pontos experimentais. Tal fato foi semelhante ao ocorrido na fase I da Etapa I e pode ser indicativo de que houve a reoxidação dos compostos de enxofre. Já para a segunda condição, houve produção de sulfeto em 8 de 9 amostras, ou seja, houve somente um ponto de monitoramento que apresentou remoção de sulfeto, o qual foi 4,8%, valor considerado baixo e que pode também ser atribuído a algum erro de análise. Ao comparar a mediana das amostras, observa-se, também, o aumento na concentração de sulfeto de 53,2 para 61,5 $mg.L^{-1}$ na segunda condição em relação à primeira. A Figura 5.14 apresenta a concentração de sulfeto na saída das unidades, a concentração de tiossulfato e produção de sulfato em na unidade RME.

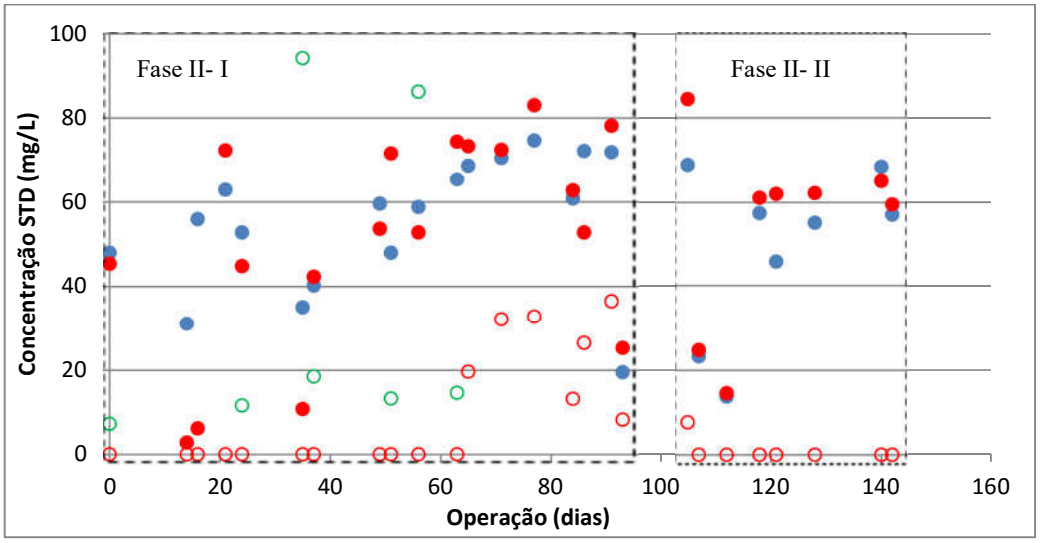

Figura5.14: Concentração de sulfeto na saída do ABFSB (●) e do RME (●). O gráfico apresenta também a concentração de tiossulfato na saída do RME (○) e a produção de sulfato na unidade microaerada (○) do sistema integrado ABFSB – RME para a Fase II-I com a presença de material suporte inoculado e para a fase (II-II) com material suporte sem inoculação.

Assim como na Etapa I, a deposição de enxofre elementar no interior da membrana foi observada e é também possível que o enxofre depositado tenha sido utilizado como fonte de energia, resultando na redução do mesmo. A presença de tiossulfato na saída do reator microaerado ao final da operação (Figura 5.14), também sugere a oxidação do enxofre a outros intermediários como tiossulfato e polissulfeto, como já observado no sistema na seção anterior e exemplificado nas equações 5.4 a 5.6.

Desta forma, é possível concluir que a presença de material suporte na unidade microaerada não promoveu a melhora na eficiência de remoção e posterior conversão do sulfeto, ou ainda, teve sua contribuição na melhora mascarada pela periodicidade da troca das membranas. A presença do material suporte inoculado poderia ter sido benéfico ao sistema, já que o desenvolvimento de microrganismos sulfeto oxidantes (SOB) foi observado em trabalho realizado por Garcés et al. (dados não publicados). No trabalho, um sistema integrado ABFSB-RMI foi estudado e foi realizado o pirosequenciamento das amostras de biomassa depositada nas paredes da membrana e de amostra retirada do material suporte do reator anaeróbio. Devido à similaridade entre as amostras, foi possível confirmar a hipótese de que a biomassa que se desprendia do reator anaeróbio se depositava nas paredes da membrana e as condições microaeróbias oferecidas pela membrana propiciavam o desenvolvimento de SOB nas paredes da membrana. Foram encontradas, nas amostras, os gêneros *Acidithiobacillus, Pseudomonas stutizeri* e *Sulfuricurvum kujiense,* os quais estão

relacionados com a oxidação do sulfeto. É importante destacar, também, que amostras do enxofre depositado na membrana foram sequenciadas, nas quais foram encontrados, principalmente, membros de *Dethiosulfovibrio.* Representantes desse gênero são capazes de reduzir o enxofre produzido a sulfeto. Esse resultado comprova que o enxofre formado nas membranas poderia ser reduzido a sulfeto por via biológica.

Em suma, foi possível observar que, mesmo na presença de biomassa aderida na unidade microaeróbia, a formação do enxofre elementar se deu principalmente e quase integralmente, salvo a formação nas paredes do reator, nas paredes da membrana, local onde ocorre a transferência de oxigênio e onde é viabilizada a conversão do sulfeto a enxofre elementar. Portanto a presença de material suporte inoculado e autoinoculado não promoveriam a melhora na conversão.

5.2.3 *Conclusões parciais e implicações práticas*

Os resultados obtidos com o sistema integrado ABFSB-RME validam a sub-hipótese 2 do trabalho, já que foi possível observar a formação de enxofre elementar nas paredes da membrana, confirmada por meio de análise de difração de raio-x. Os resultados obtidos demonstram ainda que os tempos de detenção hidráulica de 16 e 18 h para o sistema integrado foram mais adequados para a conversão do sulfeto a enxofre e que com a imobilização da biomassa não foi verificada melhora na remoção de sulfeto, já que os microrganismos sulfeto oxidantes se desenvolveram aderidos à membrana, fazendo com que a conversão ocorresse nas paredes da mesma.

Entretanto, não foram observadas altas porcentagens de remoção de sulfeto e houve grande instabilidade em relação a esses dados, já que a regularidade da troca das membranas demonstrou ser um parâmetro chave para a manutenção das remoções de sulfeto. Outra conclusão importante foi quanto ao tempo de reação fornecidos no sistema, já que, os menores TDH apresentaram melhores resultados. TDH mais altos podem favorecer a conversão do enxofre formado a outros intermediários.

Apesar de validada a sub-hipótese 2, pela comprovação da formação de enxofre elementar, a troca ou limpeza frequente das membranas podem inviabilizar o uso do sistema, em relação à sua praticidade. No entanto, os resultados desse sistema geram outras hipóteses para aperfeiçoamento do sistema, como a possibilidade do desenvolvimento de biomassa no interior da membrana tubular para a conversão do sulfeto.

5.3 Sistema combinado UASB-RMHE: Biorreator Anaeróbio de Leito Fixo e Ordenado (UASB) com membranas de silicone externa ao meio líquido (RMHE).

5.3.1 *Monitoramento sistema combinado UASB-RMHE – Etapa I.*

Dois reatores foram utilizados por 100 dias, nos quais somente um deles foi conectado a um reator microaerado de membrana externa e outro foi operado como controle. O sistema combinado UASB-RME se mostrou eficiente na remoção de sulfeto total dissolvido (STD) e de sulfeto de hidrogênio ($H_2S_{(g)}$) na fase gasosa. As concentrações sofreram diminuição significativa após o início da microaeração com a formação de biofilme na membrana, com remoção máxima de 90% do sulfeto dissolvido e 98% do sulfeto em fase gasosa. O sistema também apresentou altas remoções de DQO e sulfato, com média de 88,0 ± 3,7% e 69,8 ± 11,8%, respectivamente. A Figura 5.16 apresenta o perfil de remoção de DQO e sulfato e a Tabela 5.6 apresenta o resumo dos resultados.

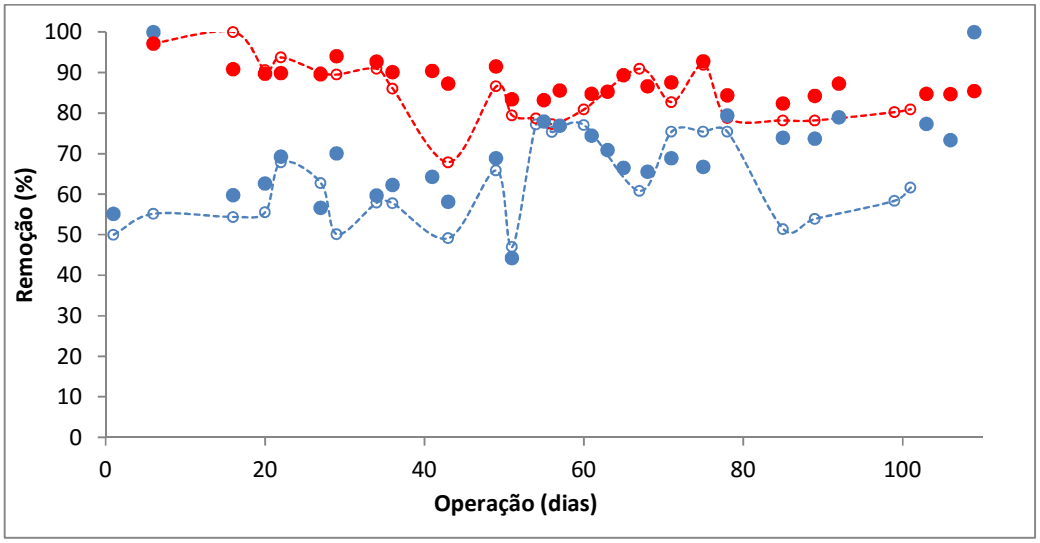

Figura 5.15: Remoção de sulfato e matéria orgânica durante a operação do sistema combinado UASB-RMHE: (●) Remoção de sulfato no sistema combinado e (-○-) remoção de sulfato no reator controle (sem microaeração); (●) Remoção de DQO no sistema combinado e (-○-) e remoção de DQO para reator controle.

Tabela 5.6: Resultados médios obtidos durante o monitoramento do sistema UASB-RMHE –Etapa I

Parâmetro	R1		R2	
	Controle	Estágio 1	Estágio 2	Estágio 3
Rem. DQO (%)	85,0 ± 7,8	94,0± 4,5	90,6 ± 1,9	85,7 ± 2,6
Rem. Sulfato(%)	61,1 ± 10,1	70,1 ± 24,6	63,6 ± 4,9	73,0 ± 11,1
Rem. STD (%)	------	------	61,5 ± 20,6	19,3 ± 14,2
Rem. H_2S (%)	------	------	90,6 ± 3,9	35,8 ± 25,8
Média Conc. Sulfeto ($mg.L^{-1}$)	27,9 ± 4,8	28,3 ± 5,5	10,9 ± 5,8	23,9 ± 6,4
Média Conc. H2S (ppmv)	2387,0 ± 861,1	4000 ± 0,0	377,8 ± 156,3	2568,8 ± 1033,9
COV ($kg.\ L^{-1}.\ dia^{-1}$)	6,0 ± 0,7	3,4 ± 1,2	5,1 ± 0,5	6,4 ± 0,65

COV: carga orgânica volumétrica

Foi observada a rápida remoção do sulfeto tanto na fase líquida quanto gasosa assim que o reator microaerado foi conectado ao sistema. A concentração de H_2S no biogás apresentou rápida queda e apresentou valores abaixo de 100 ppmv. Entretanto, a partir do dia 55 foi observado o aumento das concentrações de sulfeto tanto no biogás quanto no meio liquido. Desta forma, o perfil temporal foi dividido em três estágios de remoção, como pode ser observado na Figura 5.16, antes da microaeração (dia 0 a 20), estágio de maior remoção (dia 22 a 55) e no início da queda das remoções (dia 57 a 109). Durante o período de maior remoção (do dia 22 ao 55), a concentração de sulfeto de hidrogênio no biogás foi abaixo de 400 ppmv em 8 de 11 amostras e as médias de concentração de sulfeto foram de 10,9 ± 5,8 e 370 ± 150. No terceiro estágio, durante o qual as concentrações de sulfeto apresentaram aumento, a média de concentração foi de 23,9 ± 6.4 $mg.L^{-1}$ and 2560 ± 1030 ppmv, indicando a queda na capacidade de remoção de sulfeto. Com relação a estabilidade, o gráfico *box-plot* (Figura 5.17) com a variação da concentração de sulfeto nos três estágios apresenta altura menores do *Box*, principalmente para o sulfeto presente no biogás. O *Box* das concentrações de sulfeto no meio liquido apresentam maiores alturas, principalmente no estágio 2, porém a mediana apresenta baixo valor (9,2 $mg.L^{-1}$) e também baixa dispersão dos dados.

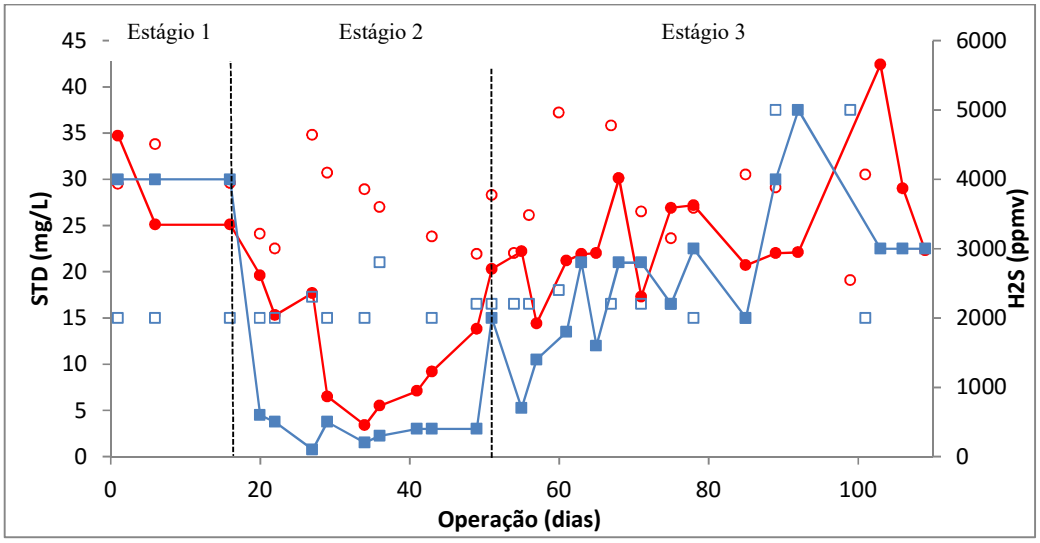

Figura 5.16: Concentrações de STD (●) e $H_2S_{(g)}$ (■) durante a operação do sistema UASB -RMHE. Em destaque o inicio da microaeração. Os pontos preenchidos se referem ao sistema microaerado (R2) e os pontos não preenchidos aos dados do reator controle (sem microaeração). As barras verticais indicam o inicio da microaeração e o início da queda de remoção.

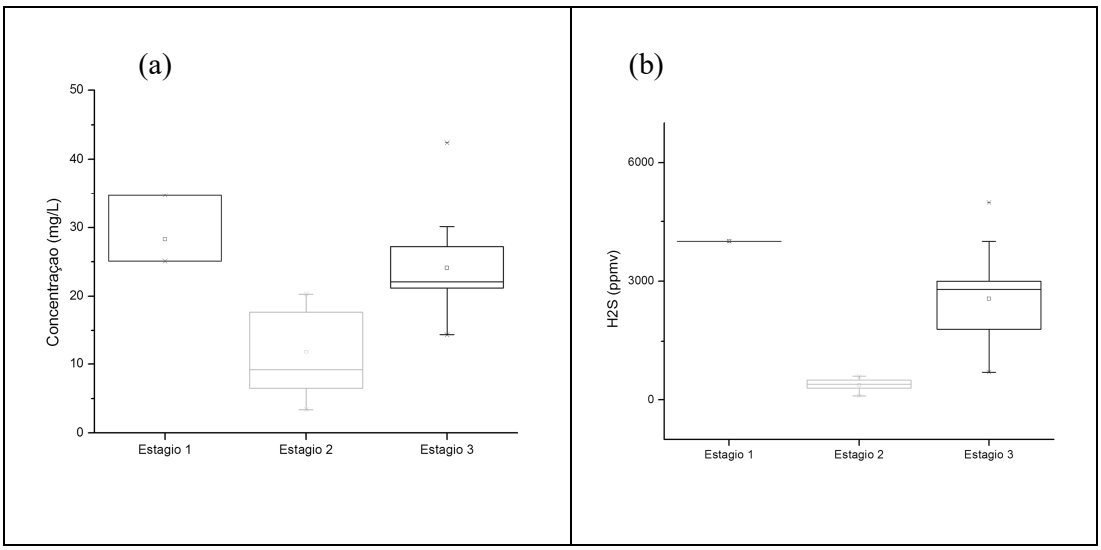

Figura 5.17: Gráfico Box-plot da concentração de sulfeto total dissolvido (a) e sulfeto presente no biogás (b) para os três estágios da operação do sistema UASB-RMHE.

Foi possível concluir que o sistema não interferiu na remoção de matéria orgânica tampouco na qualidade do biogás e apresentaram concentrações médias próximas a concentração do biogás do reator controle, com média de concentração de metano de 54.2 ± 14.7 e 52.2 ± 14.4 % (v/v) e de dióxido de carbono de 34.2 ± 11.7 e 35.7 ± 22.5 % (v/v) para o sistema combinado e para o controle, respectivamente. Díaz et al. (2011), também não observaram a alteração da composição do biogás estudando efeito do ponto de oxigenação em

sistemas microaerados. Esse resultado indica que as baixas quantidades de oxigênio não reduzem o potencial energético do biogás.

A aplicação de um módulo para a membrana de silicone permitiu também a análise de consumo de oxigênio assim como análise da composição de gases que foram transferidos do interior da membrana para a atmosfera. Gás metano e CO_2 foram transferidos durante toda operação do reator (Figura 5.18) com médias de 23,7 e 24,0% (v/v), respectivamente. Foi observada também a transferência de $H_2S_{(g)}$ através da membrana no início da microaeração, com concentração máxima de 3000 ppmv.

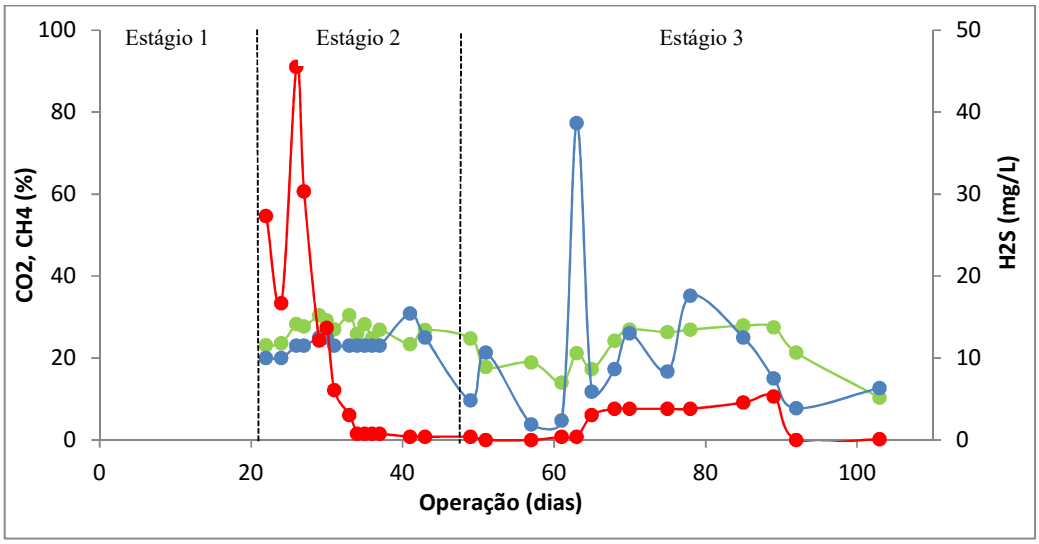

Figura 5.18: Composição do biogás transferido do interior da membrana para o módulo. Legenda: (●)$H_2S_{(g)}$ (●) CO_2 e (●) CH_4. As barras verticais indicam o inicio da microaeração e o início da queda de remoção.

Quanto à conversão do sulfeto a enxofre, este pode ser verificado visualmente, por meio do balanço dos compostos de enxofre e por meio de análise elementar. A Figura 5.19 apresenta a imagem da membrana antes e depois da formação do biofilme, ao final da operação. Os pontos em branco no biofilme são depósitos de enxofre. Por meio da concentração de cada composto de enxofre em cada corrente e seu respectivo fluxo, foi determinada a carga de cada composto e a somatória na saída do sistema combinado. Para o período sem microaeração 86% dos compostos foram medidos na saída, apresentando uma lacuna de 14%. Durante o período de maior remoção de sulfeto (dia 20 a 51), 53,5% dos compostos de enxofre que entraram foram medidos na saída do sistema combinado. Desta forma, considerando uma diferença de 14% entre os compostos medidos na entrada e na saída do período sem microaeração, pode-se inferir que a diferença de aproximadamente 47% do

período de maior remoção de sulfeto, apresentou aproximadamente 30% do sulfeto convertido a enxofre elementar.

A formação do biofilme levou aproximadamente 7 dias desde o inicio da recirculação do meio liquido no interior da membrana até a formação visual do mesmo. Durante o período, a carga orgânica volumétrica foi fixada em 3,4 $kgO_2.L^{-1}.dia^{-1}$ e já no segundo dia foi observada a formação de uma película fina nas paredes da membrana e no sexto dia foi observada o início da formação de biomassa negra acima da película. A taxa de crescimento do biofilme não pode ser acessada devido à impossibilidade de abertura do sistema. Ao final da operação do reator, a biomassa formada no interior da membrana foi coletada para análise de sólidos totais e análise elementar a fim de determinar o conteúdo de enxofre. As concentrações de sólidos totais ao final da operação foram de 20,7 $mgST.L^{-1}$ e de sólidos voláteis foi de 17,6 $mgSTV.L^{-1}$. A análise elementar foi realizada em um analisador euroEA 3000- Eurovector, que mostrou conteúdo aproximado de 21%, sugerindo portanto que, a diferença encontrada entra a entrada e saída dos compostos, aproximadamente 20% estavam na forma de enxofre, enquanto que o restante pode estar associado a formação de intermediários. Não foi observada concentração de tiossulfato no efluente e, consequentemente, os dados não foram computados para o balanço final. A Tabela 5.7 apresenta as médias de carga afluente e efluente para os compostos de enxofre assim como o balanço final.

Tabela 5.7: Cargas e balanço dos compostos de enxofre durante a operação do sistema combinado UASB-RMHE e reator controle.

Reator/ estagio		Afluente ($mgS.L^{-1}.dia^{-1}$)	Efluente ($mgS.L^{-1}.dia^{-1}$)			Total %	Lacuna* %
		$S\text{-}SO_4^{2-}$	$S\text{-}SO_4^{2-}$	$S\text{-}S^{2}_{-\,effl.}$	$S\text{-}S^{2}_{-\,biog.}$		
Controle		128,2 ± 33,5	47,1 ± 7,8	50,7 ± 8,7	10,2 ± 6,3	89	11
UASB-RMHE	1	94 ± 27,7	40,2 ± 9,1	47,9 ± 9,4	21,8 ± 4,7	91	9
	2	123,1 ± 9,9	47,1 ± 9,7	20,1 ±10,6	2,7 ± 3,1	53,5	46,5
	3	165 ± 18,2	43,9 ± 7,6	41,1 ±11,4	6,2 ± 6,2	66	34

* Lacuna: Fração da concentração de sulfeto inicial que não foi recuperado na forma de tiossulfato ou sulfato.

Figura 5.19: Reator UASB e módulo para membrana de silicone. Em destaque membrana de silicone antes e depois da formação do biofilme.

A partir do 50º dia de operação foi observada formação de biofilme mais espesso e escuro no interior da membrana. Essa formação coincidiu com a queda de remoção do sulfeto e também com o aumento do consumo de oxigênio. Foi levantada a hipótese de formação de um biofilme espesso que dificultou a transferência de oxigênio e a formação de diferentes camadas. A camada interior pode ter sido responsável por parte do consumo do enxofre produzido, como demonstrado na Figura 5.20. Amostras de cada camada do biofilme e amostras da formação de enxofre na parede da membrana foram coletadas para análises de biologia molecular para conhecer as principais diferenças entre as comunidades e sua função. Se confirmada a alteração da capacidade de transferência ou alteração da comunidade microbiana, poderão ser aplicadas diferentes estratégias de lavagem da mesma, a fim de manter a estabilidade na remoção de sulfeto.

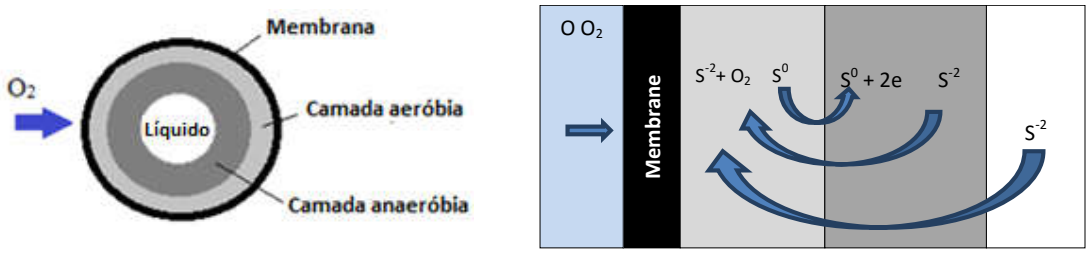

Figura 5.20: Esquema representativo da formação de camadas no biofilme no interior da membrana.

Ensaios em batelada foram realizados, com a adição de etanol, para confirmar a hipótese da redução do enxofre a sulfeto (Figura 5.21). Como já relatado, o módulo com a membrana foi desconectado do reator anaeróbio e conectado a um frasco Duran com 500 ml de meio basal com bicarbonato de sódio. No início da batelada, após a recirculação do meio basal no interior da membrana, foi observada a concentração inicial de sulfeto de 550 $\mu g.L^{-1}$. Nos primeiros 30 minutos de operação houve queda na concentração de sulfeto, o qual apresentou, até os 210 minuto de operação, concentração abaixo de 100 $\mu g.L^{-1}$. A queda na concentração de sulfeto foi acompanhada pela queda nas concentrações de oxigênio dissolvido, o qual permaneceu constante até a adição de etanol, quando foi novamente observada a queda das concentrações de oxigênio. Após a adição de etanol, com 240 minutos, foi observado o aumento na concentração de STD, indicando a redução dos compostos oxidados de enxofre, principalmente o enxofre, a sulfeto. A queda nas concentrações de oxigênio podem estar associadas a oxidação do etanol, já que a oxidação do sulfeto produzido a outros intermediários, como sulfato e tiossulfato, não foi observada.

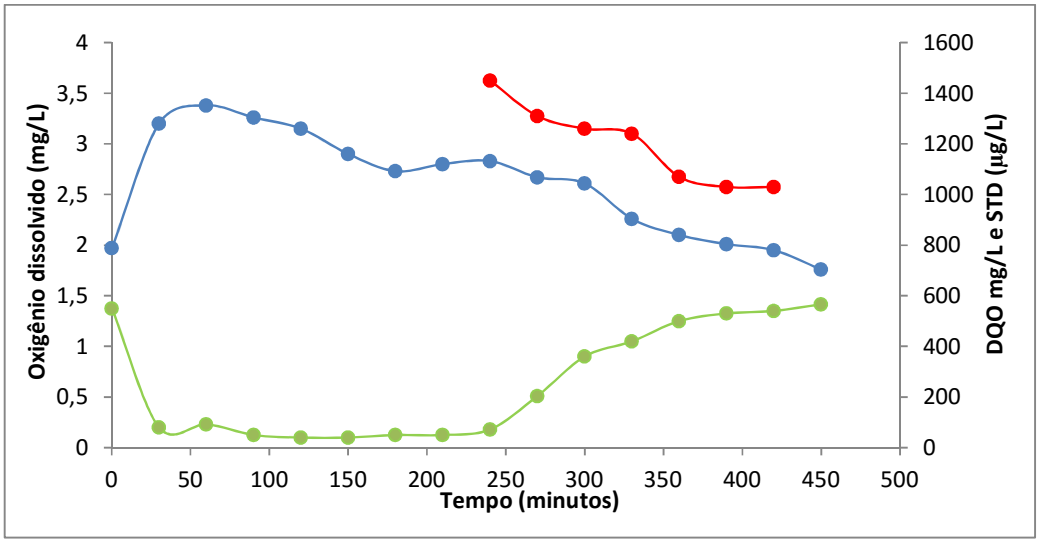

Figura 5.21: Perfil da concentração de sulfeto e oxigênio dissolvido em ensaio batelada com a adição de etanol. Legenda: (●) DQO (●) STD e (●) OD.

5.3.2 *Efeito da alteração do pH para remoção de sulfeto no biogás – Etapa II.*

O UASB-RMHE foi também operado por 82 dias com a alteração do pH a fim de verificar a influência do mesmo na remoção do sulfeto do biogás. As concentrações de sulfeto total dissolvido (STD) e de sulfeto de hidrogênio ($H_2S_{(g)}$) na fase gasosa sofreram aumento significativo após mudança de pH da fase líquida de 7,5 para 7,0; com remoção máxima de 98% do sulfeto em fase gasosa para o valor de pH próximo a 7,5 e remoção máxima de 50%

do sulfeto em fase gasosa para o valor de pH próximo a 7,0. A Figura 5.22 apresenta o gráfico Box-plot da concentração STD e $H_2S_{(g)}$ durante a operação do reator para os três estágios: (1) sem microaeração, (2) pH 7,5 com microaeração e pH 7,0 com microaeração.

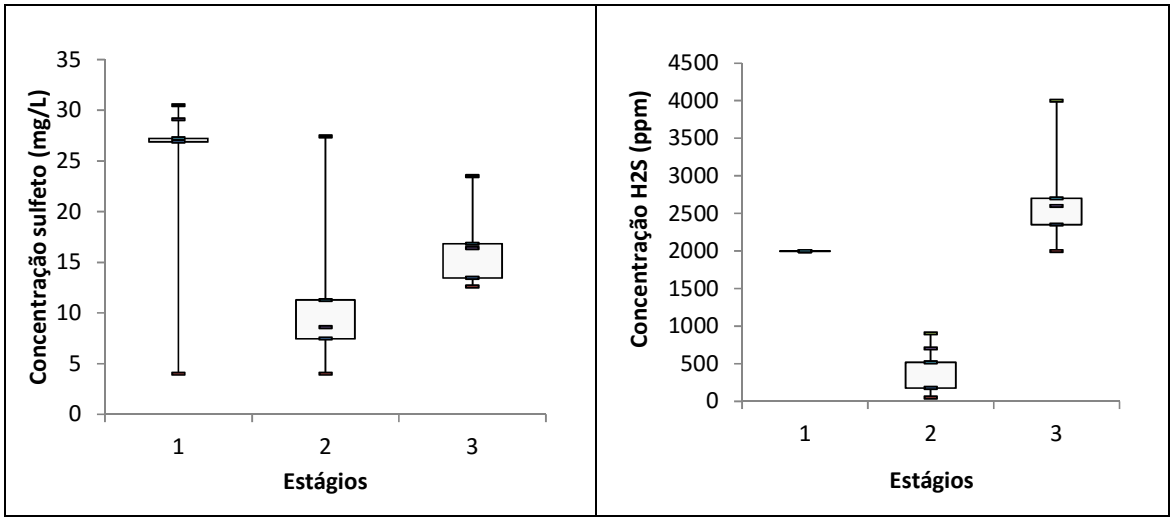

Figura 5.22: Gráfico Box-plot da concentração de sulfeto total dissolvido (a) e sulfeto presente no biogás (b) para os três estágios da operação: 1- sem microaeração, 2- pH 7,5 com microaeração e (3) pH 7,0 com microaeração.

A composição de gases que foram transferidos do interior da membrana para a atmosfera foram em média 23,0 e 20,6% (v/v) para gás metano e CO_2, respectivamente. Foi observada também a transferência de $H_2S_{(g)}$ através da membrana, com concentração máxima de 15 ppmv. Com a formação do biofilme na parede da membrana, a concentração dentro do módulo foi de 0 ppmv.

Foi determinada também a carga de cada composto e a somatória dos compostos de enxofre na entrada e saída do sistema. Durante o período com valor de pH 7,5 (dia 25 a 66) a fração de saída dos compostos de enxofre representou em média 41,8% dos compostos de entrada. Para o período com valor de pH 7,0, a fração de saída dos compostos de enxofre representou em média 66,5% dos compostos de entrada. Não foi observada concentração de tiossulfato no efluente, dessa forma, os dados não foram computados para o balanço final.

A estratégia de mudança de valores de pH pode ser considerada como uma estratégia eficaz para a remoção de sulfeto da fase gasosa, já que durante o período de operação com valor de pH mais elevado, a concentração mínima de H_2S no biogás foi de 50 ppmv, enquanto para valor mais baixo de pH o valor mínimo foi de 2000 ppmv.

5.3.3 *Composição microbiana*

Por meio do sequenciamento massivo de amplicons do gene rRNA 16S foi possível identificar os microrganismos envolvidos nas conversões dos elementos do ciclo do enxofre e confirmar a presença de diferentes camadas de biofilme no interior da membrana. As análises foram realizadas em amostras retiradas do interior membrana após sua operação: duas delas foi o material aderido à parede da membrana de silicone e outra amostra coletada no interior da membrana. Das amostras coletadas da parede foram retiradas uma amostra da biomassa aderida (B) e uma amostra de formação de partículas de enxofre (E). A amostra retirada do interior da membrana foi identificada como BI (Figura 5.23) A composição da comunidade microbiana demonstrou que, além das diferenças visuais, houve a diferenciação na comunidade, principalmente entre as amostras da parede e do interior, evidenciando assim a formação de diferentes camadas no interior da membrana. Além de comprovar a hipótese de diferentes camadas do biofilme, pode-se confirmar a presença de gêneros relacionados à conversão do sulfeto a enxofre.

Figura 5.23: **(A)**: Aspecto visual da biomassa aderida a parede da membrana (nota-se as áreas brancas relacionadas a formação de enxofre - amostra SP). **(B):** Amostras da biomassa (BP) e do enxofre (SP) aderidas à parede. **(C) e (D):** Aspecto da amostra retirada do interior da membrana (amostra BI).

Por meio do sequenciamento das três amostras obteve-se de 76128 a 149693 sequências com tamanho médio de 394±92 bp. Durante o processo de filtragem de 40 a 47 % das sequencias foram filtradas com base no tamanho da sequência, qualidade (Q_{phred} >24),

presença de bases ambíguas e chimeras. O cálculo de cobertura *Good's* apresentou valores de 98 a 99%, indicando a elevada cobertura em todas as amostras. Em relação ao estimador de riqueza – Chao1, observou-se maior valor para a amostra retirada da parede da membrana (B). Com relação ao índice de diversidade Shannon, o mesmo revela alta diversidade para as três amostras (índice maior que 4,0 para todas as amostras). O resumo dos dados do sequenciamento é apresentado na Tabela 5.8.

Tabela 5.8: Resumo dos dados de sequenciamentos das três amostras.

Parâmetros		**B**	**E**	**BI**
Dados Brutos	Número de Sequências	149693	93145	76128
	Tamanho médio	395 ± 92	395 ± 90 bp	382 ± 96 bp
Dados Filtrados	Número de Sequências	69547	44054	30673
	Número de OTU	2390	1205	1258
	Singletons	1307	540	578
	Tamanho médio	291 ± 157 bp	293 ± 160 bp	337 ± 156 bp
	% de Seqs. Filtradas	46%	47%	40%
Riqueza e Diversidade	Chao1	5057±173	2209±119	832±68
	Rarefação	2390±14	1205±20	1258±0
	Shannon (H)	4,64±0,02	4,22±0,03	4,86±0
Cobertura	Indice de Good's	98%	99%	98%
	OTUs/Chao-1	47%	55%	54%
Porcentagem de sequencias classificadas	Filo	96%	99%	99%
	Família	77%	89%	84%
	Gênero	53%	68%	54%

As análises de curva de rarefação (Figura 5.24) foram analisadas a fim de inferir se o número de sequências obtidas para cada nível taxonômico foi suficiente para representar a diversidade da amostra. Foi possível observar que para 80% de similaridade (nível de filo) notou-se saturação com a formação de platô para as três amostras. Entretanto para 95 e 97% de similaridade (nível de gênero e espécie, respectivamente) as três amostras apresentaram gráficos ascendentes e não formaram o platô, indicando que as sequências obtidas não foram suficientes para amostrar completamente a riqueza microbiana das amostras.

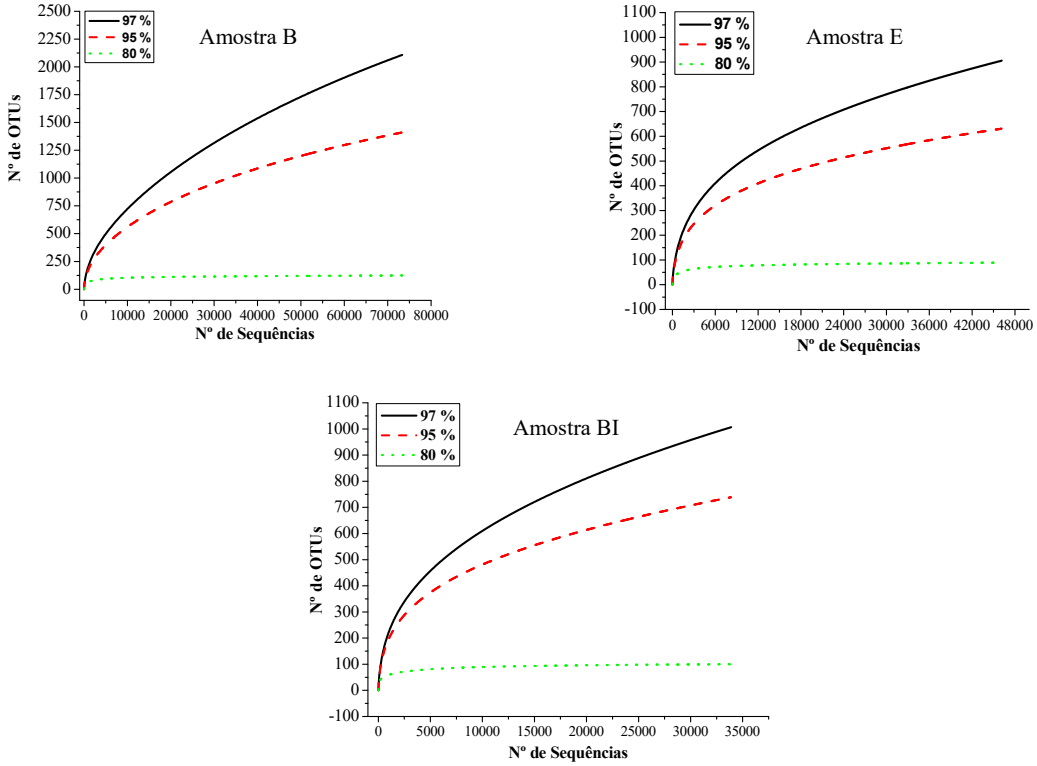

Figura 5.24: Curvas de rarefação para as duas amostras coletas na parede da membrana (B e S) e para a amostra coletada no interior da membrana.

Para a comparação das três amostras foi utilizado o índice de Bray-Curtis. A Figura 5.25 apresenta o dendograma baseado no índice Bray-Curtis, no qual é possível observar maior similaridade entre as amostras retiradas da parede (64%). Apesar das diferenças visuais das amostras (Figura 5.23-B), a similaridade das mesmas foram maiores se comparadas a amostra retirada do interior, a qual apresentou índice de similaridade de apenas 42%. Garcés et al (dados não publicados) estudaram um sistema integrado ABFSB-RMI, no qual amostras depositadas na membrana de silicone apresentaram as mesmas características visuais das amostras relatadas nesse estudo, porém, as formações de enxofre apresentaram baixa similaridade com a biomassa escura depositada na membrana (42%). Entretanto, a biomassa escura apresentou maior similaridade com a amostra retirada do leito do reator anaeróbio (64%), indicando que a biomassa escura seria a biomassa desprendida do leito que, ao se depositar na membrana, levou ao desenvolvimento de microrganismos sulfeto oxidantes. No presente estudo o agrupamento das amostras das paredes pode ser devido ao fato da baixa similaridade entre as amostra de parede e amostra do interior, indicando a estratificação das camadas.

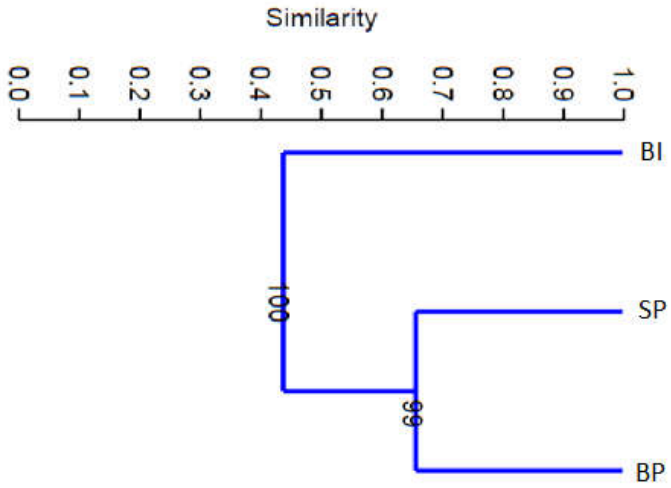

Figura 5.25: Dendograma baseado no índice de Bray-Curtis para as três amostras do sistema combinado UASB-RMHE.

Por meio da ferramenta *RDP-classifier* obteve-se a classificação taxonômica das sequências representativas de cada OTU. Os filos mais abundantes as amostras B, E e BI foram Proteobacteria (54,1; 64,9 e 28,5%, respectivamente), Firmicutes (7,9; 8,2 e 24,2%) e Bacteroidetes (20,2; 14,1 e 24,9%). Resultados semelhantes foram encontrados por Garcés et al (dados não publicados) o quais, por meio de análise de pirosequenciamento, revelaram maior abundância para os mesmos filos. Do filos destacados pelos autores, 11 gêneros foram associados ao ciclo do enxofre. A Figura 5.26 apresenta os gráficos de abundância relativa para Filo, Família e Gênero de cada amostra.

Ao todo, para as três amostras, 19 gêneros foram identificados. O gênero mais abundante foi o *Sulfuricurvum* (Figura 5.26) Além desse, outros seis gêneros relacionados ao ciclo do enxofre foram encontrados. Desses sete gêneros, dois deles estão relacionados a oxidação do sulfeto e foram encontrado exclusivamente nas amostras retiradas da parede da membrana, os quais foram *Geovibrio* (3,2% para B e 2,4% para E), *Flexispira* (1,2% para B e 2,8% para E) e Sulfurospirillum. (1,1% para B e 1,2% para E). É importante ressaltar também o papel das redutoras de sulfato, que podem ser associadas aos gêneros *Paludibacter*, *Desulfovibrio* e *Desulfobulbus* e estiveram presentes nas três amostras com abundância relativa variando de 0,4 a 7,8%.

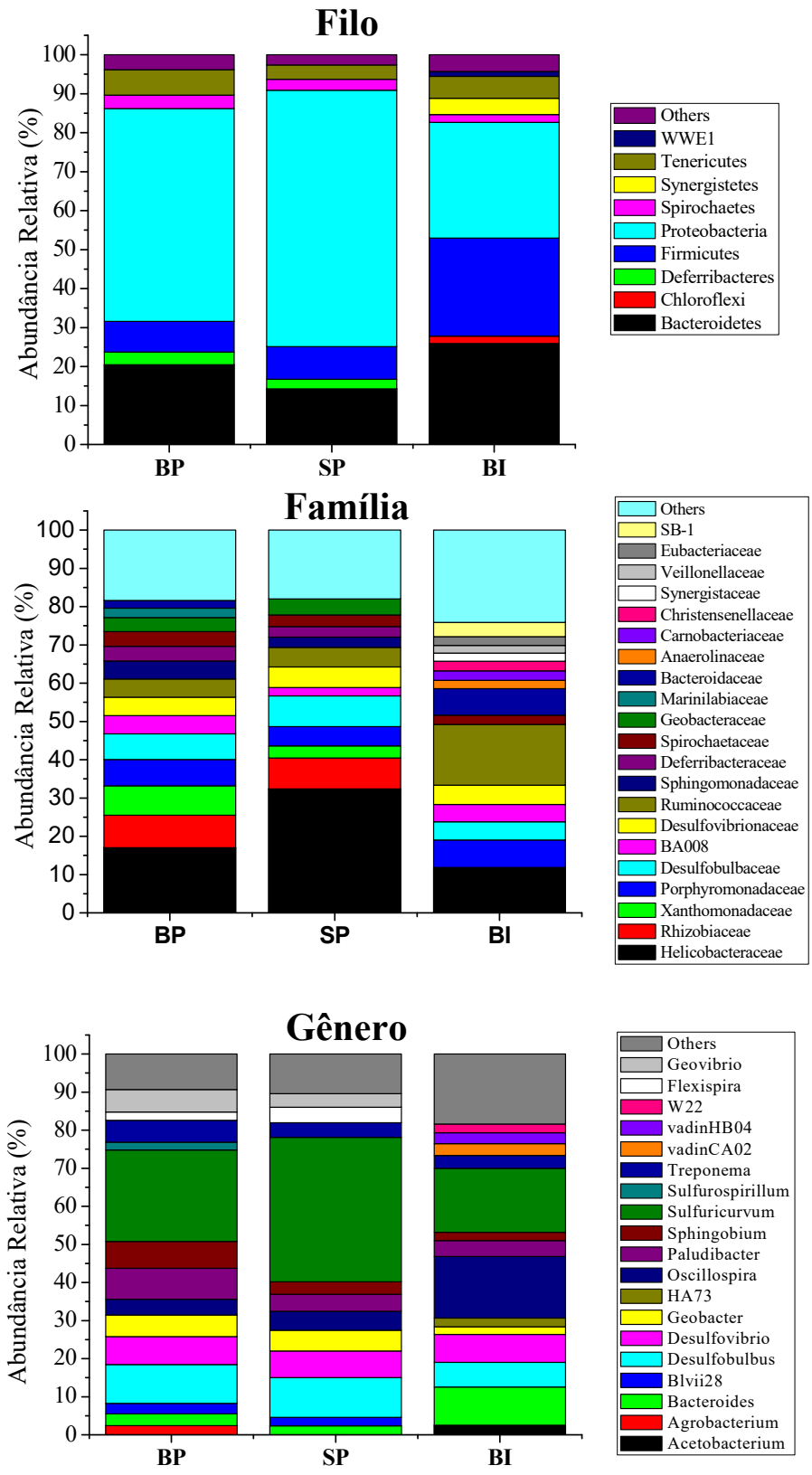

Figura 5.26: Gráficos de abundância relativa para Filo, Família e Gênero para as três amostras do sistema combinado UASB-RMHE.

A Figura 5.27 apresenta o diagrama Circos (Krzywinski *et al.*, 2009), que relaciona as amostras aos gêneros encontrados em cada uma delas. Os gêneros são apresentados também de forma quantitativa, pela abundancia relativa. Além disso, os gêneros foram divididos em três grandes grupos: anaeróbios, aeróbios e microaerados. O gênero de maior abundância relativa encontrada, o *Sulfuricurvum,* pôde ser acessado até espécie, a qual foi *Sulfuricurvum kujiense.* A espécie foi encontrada nas três amostras. A espécie foi descrita por Kodama & Watanabe (2004) como bactéria anaeróbia facultativa e enxofre oxidadora, que cresce anaeróbia e microaerobiamente pela oxidação de compostos reduzidos de enxofre, como sulfeto, enxofre elementar e tiossulfato. Entretanto em condições anaeróbias o nitrato pode ser utilizado como aceptor de elétrons.

É possível também observar por meio do diagrama Circos, que todas as amostras estão relacionadas com os três grupos, porém a amostra BI apresenta a maioria dos gêneros associados ao grupo anaeróbio. Dentre os gêneros anaeróbios encontrados, três estão relacionados a redução do sulfato: *Desulfobulbus, Desulfovibrio* e *Paludibacter.* A espécie *Geobacter lovleyi* foi também encontrada nas três amostras, porém com maior abundância nas amostras retiradas da parede. Apesar de a espécie ser anaeróbia, ela está relacionada a utilização de enxofre elementar como aceptor de elétrons (Sung et al., 2006). Desta forma, as mesmas podem estar relacionas a redução do enxofre e a produção de sulfeto.

Os quatro gêneros microaerofílicos encontrados em maior abundancia são relacionados ao ciclo do enxofre. Além do *Sulfuricurvum,* foram encontradas *Geovibrio, Flexispira e Sulforospirillum*, exclusivamente nas amostras retiradas da parede, evidenciando a estratificação da biomassa e o desenvolvimento de comunidades distintas. O gênero *Geovibrio* está relacionado a oxidação do sulfeto (Janssen *et al.*, 2002), porém *Flexispira e Sulforospirillum* estão relacionados a redução do enxofre elementar.

Por meio do sequenciamento massivo das amostras foi possível confirmar a estratificação do biofilme no interior da membrana. A diversidade das comunidades, mostradas nas Figuras 5.26 e 5.27 e a variação da população em função do local de amostragem, confirmam a hipótese de estratificação do biofilme, além do desenvolvimento de microrganismos relacionado à oxidação do sulfeto na parede da membrana. A utilização do enxofre elementar como aceptor de elétron por alguns microrganismos também deve ser considerada.

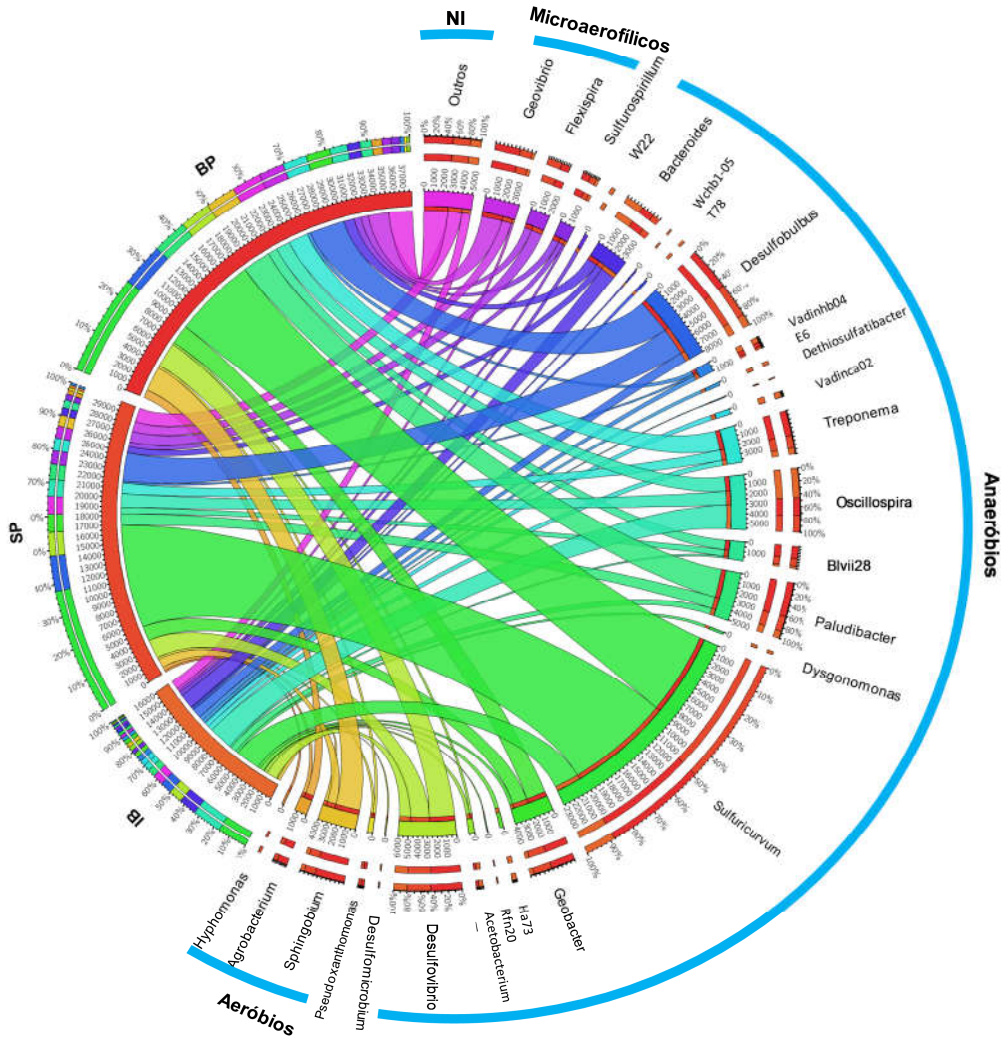

Figura 5.27: Distribuição dos gêneros encontrados nas amostras retiradas da parede: biomassa (BP) e enxofre (SP) além da amostra retirada do interior da membrana (IB). As barras em laranja e vermelho apresentam a porcentagem do gênero em cada amostra e as barras em azul agrupam as sequências em anaeróbio, aeróbio e microaeróbio. NI: não identificado.

5.3.4 *Conclusões parciais e implicações práticas*

De maneira geral, a estratégia de microaeração, utilizando membranas associada à formação de biofilme, apresentou resultados relevantes quanto à remoção de sulfeto e validou a sub-hipótese 3. As concentrações de sulfeto estiveram abaixo de 400 ppmv em sua fase gasosa e abaixo de 5,0 $mg.L^{-1}$ na fase líquida, com remoção máxima de 90% do sulfeto dissolvido e 98% do sulfeto em fase gasosa. A alteração do pH do meio líquido também se mostrou eficiente para a remoção do sulfeto da fase gasosa, o qual foi removido na fase líquida, validando assim a sub-hipótese 4. Entretanto, ao longo do tempo foi observada a queda na remoção de sulfeto associada à alteração na comunidade microbiana. O

sequenciamento das amostras comprovou que os microrganismos aderidos à parede da membrana possuem maior potencial para a oxidação do sulfeto e a utilização de compostos de enxofre em geral. Desta forma, para a manutenção da remoção do sulfeto o crescimento da biomassa deve ser interrompido com a retro lavagem da membrana, com remoção do biofilme formado. Entretanto, a separação do enxofre da biomassa pode se tornar um desafio na recuperação do mesmo, sendo assim, a formação de enxofre desassociada a biomassa deve ser considerada. Assim, uma nova hipótese pôde ser gerada a partir dos resultados do sistema combinado UASB-RMHE, a qual se refere à formação do enxofre na parede externa da membrana helicoidal, o que dificultaria a formação de biomassa e facilitaria a posterior remoção do enxofre.

5.4 **Sistema combinado ABFSB-RMHS: Biorreator Anaeróbio de Leito Fixo e Ordenado (ABFSB) com membrana tubular de silicone helicoidal e submersa ao meio líquido (RMHS).**

5.4.1 *Monitoramento do sistema combinado*

O sistema combinado ABFSB-RMHS foi estudado a fim de avaliar a remoção de compostos de enxofre em reator anaeróbio com unidade microaerada por membrana de silicone, a qual permanecia interna ao meio líquido. A unidade microaerada foi pensada para avaliar a eficiência de reatores com membranas helicoidais e internas ao meio líquido a fim de facilitar a separação do enxofre e da biomassa e a posterior recuperação do mesmo. Além disso, foram avaliados diferentes tempos de detenção hidráulica (TDH) como forma de controle do processo.

O sistema combinado ABFSB-RMHS foi operado durante 100 dias, sendo que o mesmo foi operado 37 dias sem microaeração para a partida do sistema anaeróbio, 34 dias com TDH total de 5,5 horas e 16 dias com TDH total de 8,5 horas na unidade microaerada. Após o período de adaptação, a remoção de matéria orgânica e sulfato foram estáveis durante toda a operação. A remoção do sulfeto foi também observada em todas as etapas de operação com a formação visual de enxofre elementar nas paredes da membrana no RMHS, com desprendimento e sedimentação do enxofre formado, perfazendo assim, um grande diferencial com relação aos outros sistemas estudas (presente estudo e Garcés et al, dados não publicados).

A remoção de sulfato na unidade anaeróbia apresentou média de 55,5 ± 11,1% e 79,8 ± 8,5% para a matéria orgânica e ara as duas etapas testadas e também para a adaptação. A

Figura 5.29 apresenta os valores de remoção de DQO e sulfato para do sistema combinado e a Tabela 5.9 apresenta os valores médios de monitoramento do sistema combinado.

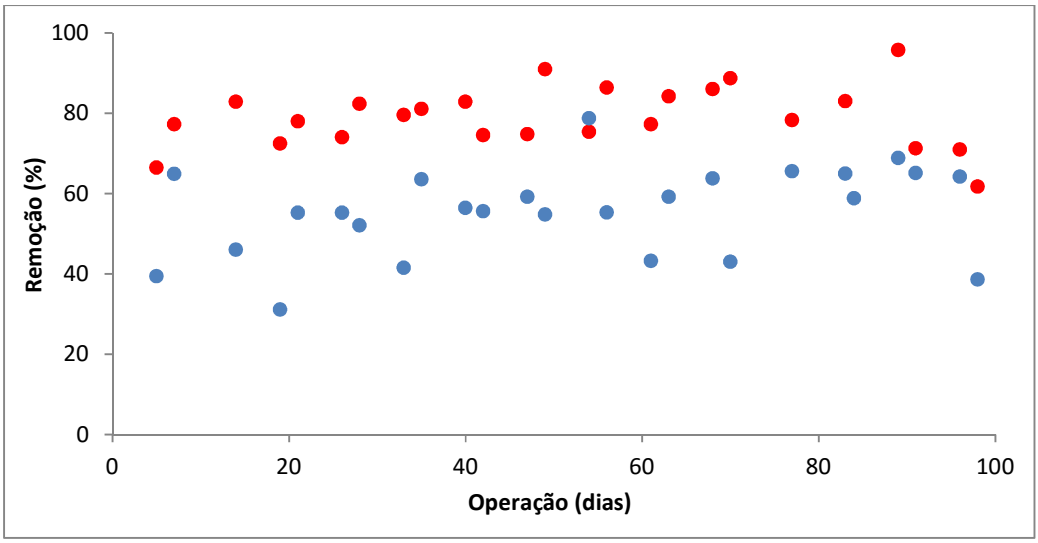

Figura 5.28: Remoção de sulfato (●) e matéria orgânica (●) durante a operação do sistema combinado ABFSB-RMHS.

Tabela 5.9: Resultados médios obtidos durante o monitoramento do sistema ABFSB-RMHS.

Parâmetro	Adaptação		Fase I - TDH 5,5 hrs		Fase II - TDH 8,5 hrs	
	ABFSB	RMHS	ABFSB	RMHS	ABFSB	RMHS
Rem. DQO (%)	79,3 ± 8,1	-----	82,5 ± 5,7	---	86 ± 10,5	---
Rem. Sulfato(%)	61,7 ± 8,7	-----	58,8 ±10,1	---	88,4± 5,7	---
Rem. Sulfeto (%)	------	-----	------	39,7 ± 7,0	------	14,0 ± 11,5
Média Conc. Sulfeto	86,4 ± 12,4	-----	90,6 ± 8,4	54,4 ± 6,5	94,1± 5,4	85,6± 17,0
COV (g. L^{-1}. dia^{-1})	1,9 ± 0,1		2,1 ± 0,2		2,0 ± 0,2	
TDH	11,6 ± 0,4	-----	10,6 ± 0,8	6,1 ± 0,5	11,0 ± 0,2	8,5 ± 1,2

COV: carga orgânica volumétrica

A remoção de sulfeto foi estável durante toda a operação com média de 39,7% para o TDH de 5,5 h e de 14% para o TDH de 8,5 h. A remoção de sulfeto permaneceu estável durante toda a operação da Etapa 1 (Figura 5.29). O aumento do TDH foi aplicado a fim de aumentar o tempo de reação na unidade microaerada e promover o aumento da eficiência de remoção de sulfeto. Entretanto, o mesmo não foi verificado e, houve ainda a redução na média de eficiência da remoção de sulfeto. O aumento das concentrações de sulfeto e a consequente queda na remoção podem estar relacionados ao tempo de reação aplicado. Como já relatado na operação do sistema integrado, pode ter ocorrido a redução do enxofre a sulfeto por microrganismos, como os membros do gênero *Dethiosulfovibrio,* os quais são capazes de

reduzir o enxofre produzido a sulfeto. O gênero foi encontrado nas amostras retiradas da superfície da membrana, no sistema UASB-RMHS, e também foi relatado por Gárces et al. (dados não publicados) nas amostras de enxofre depositadas na membrana.

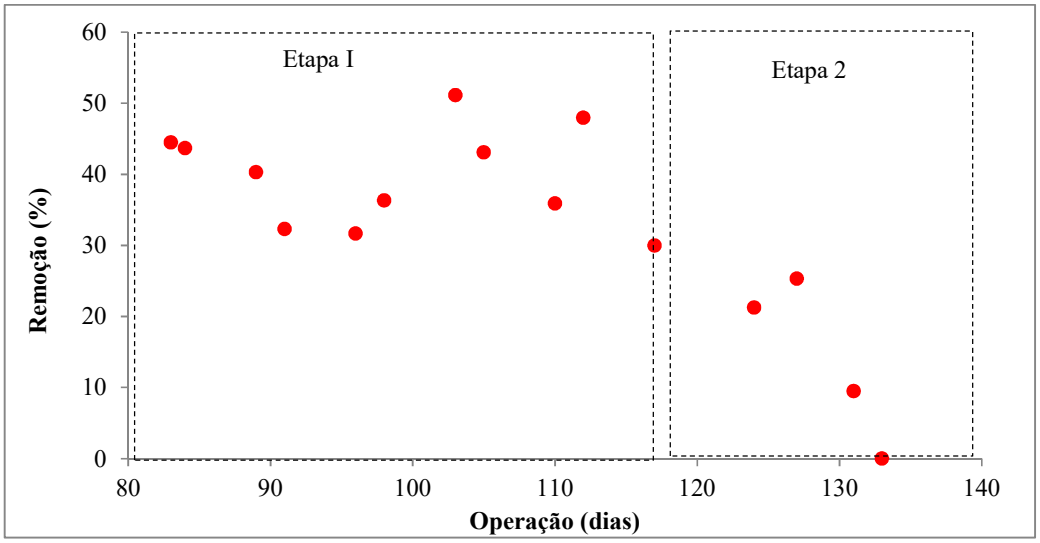

Figura 5.29: Remoção de sulfeto durante as etapas microaeróbias do sistema combinado ABFSB-RMHS. Etapa I TDH de 5,5 h e Etapa II TDH de 8,5 h.

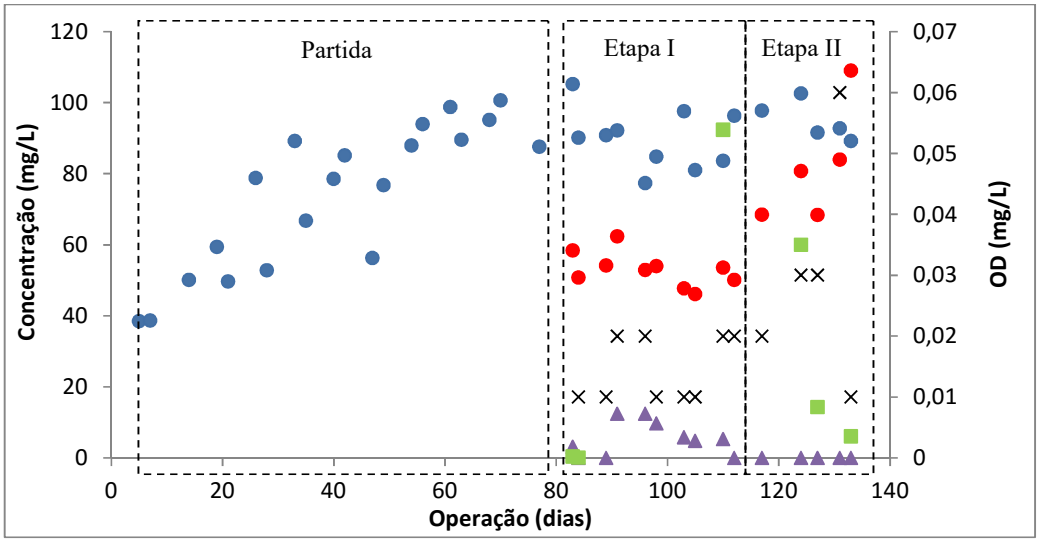

Figura 5.30: Concentrações de STD na saída do ABFSB (●) e do RMHS (●), concentração de tiossulfato (▲), de oxigênio dissolvido (X) a produção de sulfato na unidade microaerada (■). Etapa I TDH de 5,5 h e Etapa II TDH de 8,5 h.

Com o aumento do TDH foi observado, também, o aumento nas concentrações de sulfeto e produção de sulfato no reator microaerado (Figura 5.30). Tiossulfato foi somente observado na etapa I com TDH de 5,5 h, porém, para os pontos nos quais houve a produção

de sulfato, não foi observado tiossulfato. A hipótese de que o aumento do TDH propicia condições anaeróbias ao sistema pode ser refutada diante dos dados de oxigênio, os quais foram maiores para a Etapa II, fato que reforça a hipótese de utilização do enxofre por outros microrganismos que utilizam o enxofre como fonte de energia, reduzindo a sulfeto ou ainda o oxidando a outros compostos.

Diferentemente dos demais sistemas estudados, o sistema combinado com membranas helicoidais propiciou a formação e sedimentação do enxofre. O enxofre foi formado em camada em torno da membrana, o qual, com o aumento da espessura das camadas, atingia o ponto de ruptura. Nesse ponto, com interferência mecânica, as camadas de enxofre formadas precipitavam em placas e sedimentavam no fundo do reator.

Na Etapa 1, TDH de 5,5 h, foi observada a formação e precipitação do enxofre por três vezes e a uma vez para a Etapa II, TDH de 8,5 h, o qual se denomina aqui de ciclos de sedimentação. O ciclo de sedimentação se dava no período desde o início da formação de enxofre elementar nas paredes da membrana tubular até o desprendimento e sedimentação do mesmo. Após a sedimentação o enxofre era coletado e analisado, a membrana era limpa e era dado início a outro ciclo. Os ciclos apresentaram períodos distintos, de 6, 20, 13 e 10 dias, entretanto a remoção de sulfeto foi estável, principalmente na etapa I e a única relação direta encontrada foi a concentração de sólidos totais, que foi maior para os períodos mais longos. Para cada ciclo, a concentração de sólidos totais foi de 0,36; 1,67; 0,55, e 0,12 $g.L^{-1}$. A Figura 5.31 apresenta a média de remoção de cada ciclo e a concentração de sólidos para cada ciclo e a Figura 5.32 mostra a sequência da formação do enxofre em torno da membrana.

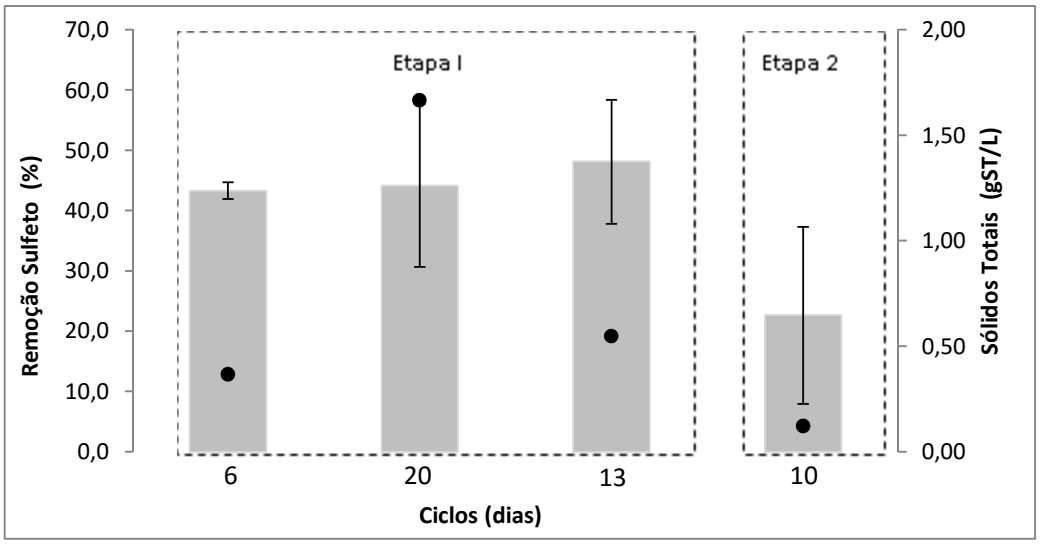

Figura 5.31: Remoção de sulfeto média e concentração de sólidos para cada ciclo de sedimentação para a Etapa I TDH de 5,5 h e Etapa II TDH de 8,5 h.

Figura 5.32 : Imagens da membrana durante um dos ciclos de sedimentação. O ciclo durou 6 dias e as fotos se referem aos dias 1, 2 , 4 e 6 e as duas últimas imagens mostram o enxofre sedimentado.

Análises microscópicas foram realizadas a fim de se verificar se a conversão do sulfeto a enxofre se deu por via química ou biológica. As camadas formadas não estavam visualmente associadas à biomassa, como nos sistemas anteriores. Desta forma, amostras foram retiradas e analisadas em microscópio óptico. Verificou-se que havia a presença de um

biofilme ao redor da membrana e que o enxofre formado, provavelmente, foi convertido por via biológica. A coloração do enxofre também indica a conversão biológica, já que eram formados grânulos amarelo palha. A Figura 5.33 apresenta as imagens de microscopia, nas quais foram observados organismos com morfologia semelhante a bacilos, inclusive com estruturas onde se podia observar um material no interior da célula, provavelmente enxofre elementar.

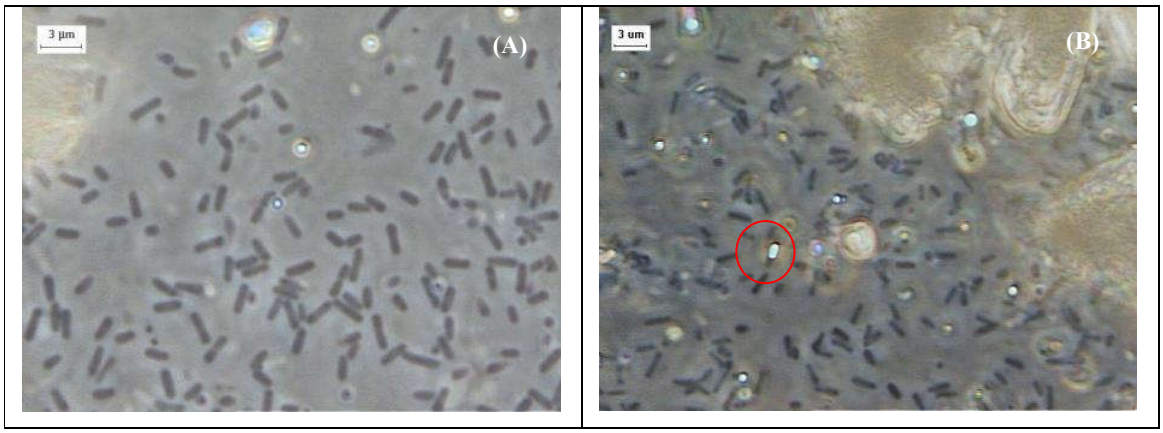

Figura 5.33: Microscopia óptica comum da amostra de enxofre retirada da parede da membrana. A imagem A apresenta morfologia semelhante a bacilos e na imagem B em destaque é mostrado o possível armazenamento do enxofre pelo microrganismo.

A fim de comprovar a presença de enxofre elementar nas amostras retiradas da parede, foi realizada a análise química elementar por meio de um microscópio eletrônico de varredura. O EDS, um detector acoplado ao MEV, permitiu a identificação dos elementos químicos constituintes da amostra. O espectro EDS para cada amostra (Figura 5.34) apresenta os picos de S em todas as amostras, além de outros elementos com O, Ca, Mg, Si, P, K e Fe.

A Tabela 5.9 apresenta o resumo dos dados de distribuição percentual de massa do elemento S nas amostras. A análise de EDS é uma análise semiquantitativa, na qual, o percentual é obtido para três áreas distintas da amostra a fim de se obter validade estatística. Os valores percentuais de massa obtidos para cada ciclo foram próximos, com média de 17,5% para as amostras calcinadas em mufla a 550°C. Entretanto, a diferença entre os valores de uma mesma amostra com tratamentos distintos deve ser ressaltada. As amostras retiradas passaram por dois tratamentos distintos: secas a 103°C e depois calcinadas em mufla a 550°C e somente secas em estufa a 103°C, ambas homogeneizadas antes da análise. Foi observado valor bastante discrepante para a mesma amostra (Ciclo 3) somente seca em estufa e calcinada em mufla: 19,9 e 86,7%, respectivamente. Fica evidente, portanto, que a forma de preparo da amostra é de extrema importância e deve ser avaliada. Este tipo de tratamento que se refere à secagem da amostra é de extrema importância, já que pode ser utilizada para separar o

enxofre da biomassa, porém, somente a secagem em estufa não é suficiente para a separação e a secagem em torno de 550°C pode volatilizar os compostos de enxofre. Desta forma temperaturas entre 200°C e 500°C devem ser testadas a fim de se verifica a que temperatura a separação da biomassa ocorre sem que ocorra a volatilização dos compostos.

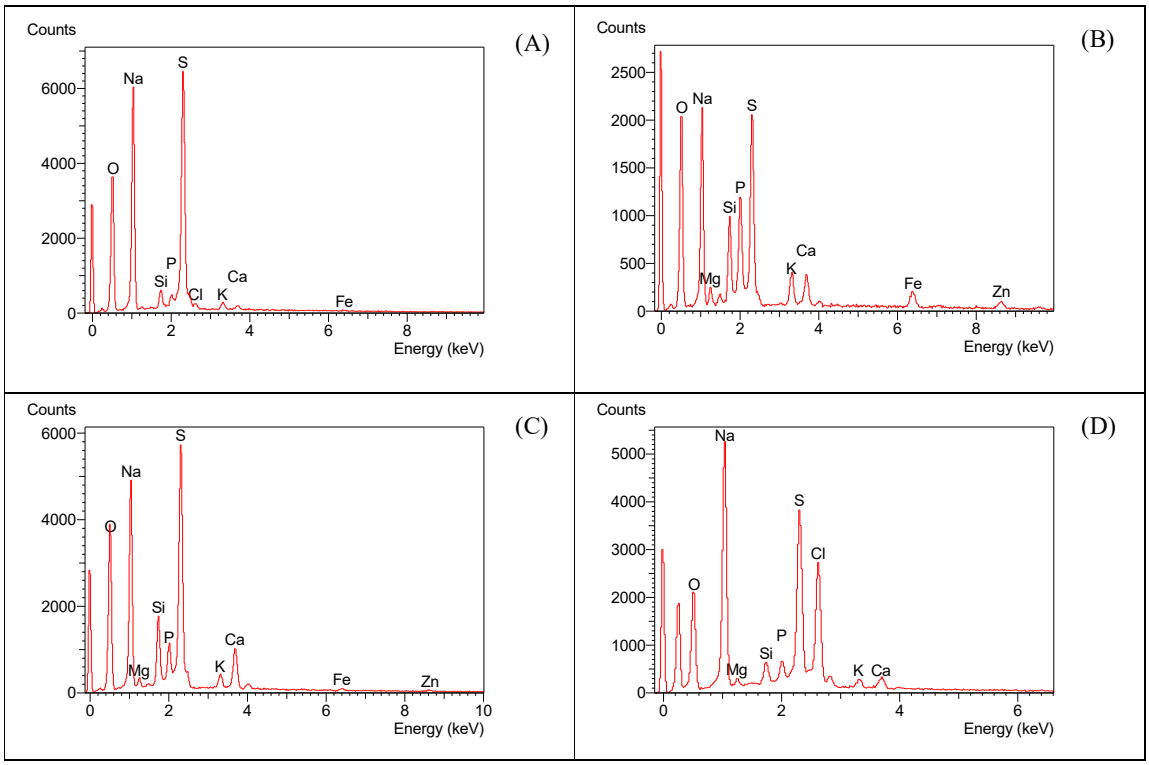

Figura 5.34: Espectro EDS para as áreas analisadas das amostras retiradas ao final de cada ciclo. (A): amostra calcinada ciclo 1 , (B): amostra calcinada ciclo 2, (C) amostra calcinada ciclo 3 e (D) amostra seca ciclo 4.

Tabela 5.10: Resumo dos dados de distribuição percentual do elemento S nas amostras.

Etapa	Ciclo	Tratamento Amostra	% Elemento*
I	1	Mufla 550°C	22,69
	2	Mufla 550°C	12,66
	3	Mufla 550°C	19,99
II	3	Estufa 103°C	86,67
	4	Estufa 103°C	14,82

*média de análise de três áreas para cada amostra.

O balanço total de enxofre, considerando a entrada ABFSB e a saída do RMI, foi realizado. A Tabela 5.11 mostra as médias de carga afluente e efluente para os compostos de enxofre assim como o total de compostos recuperado na saída do reator. O valor total de compostos recuperados apresentou média de 81,5% e, consequentemente, média de 21% de compostos não recuperados na forma de tiossulfato ou sulfato (lacuna). Os valores totais de

compostos recuperados foram bastante próximos para os ciclos de cada etapa. Ressalta-se que, a lacuna apresentada, ou seja, a fração inicial de sulfeto não detectada na saída dos reatores pode ser um indicativo da formação de enxofre.

Tabela 5.11: Cargas e balanço dos compostos de enxofre durante a operação do sistema integrado ABFSB –RMHS.

Etapa/ciclo		Afluente (mgS,dia^{-1})	Efluente (mgS,dia^{-1})				Total %
		$S\text{-}SO_4^{2-}$	$S\text{-}SO_4^{2-}$	$S\text{-}S_2O_{3\text{- effl,}}$	$S\text{-}S^{2}_{\text{- effl}}$	$S\text{-}S^{2}_{\text{- biog,}}$	
Adaptação		2337,5 ± 406,2	1033,1± 340,2	-----	1077,8 ± 159,0	41,2 ± 10,7	92,8
	1	1612,5 ± 214,0	530,6 ± 212,8	8,9 ± 15,4	748,4 ± 123,7	32,3 ±6,5	83,0
I	2	2181,6 ± 178,7	824,8 ± 66,9	70,6± 28,5	699,3 ± 103,8	29,9 ±6,7	75
	3	2265,7 ± 358,1	929,5 ± 361,0	15,6 ± 26,9	835,8± 163,5	28,7 ± 3,3	79,7
II	4	2827,6 ± 325,4	947,0 ± 653,5	0 ±0	1122,4 ± 239,3	44,1 ±14,1	77,3

5.4.2 *Conclusões parciais e implicações práticas*

O sistema combinado ABFSB-RMHS apresentou dois grandes diferenciais dos demais sistemas estudados: a remoção estável de sulfeto e a formação e sedimentação do enxofre, validando assim a sub-hipótese 5. A remoção de sulfeto apresentou média de 39,7% para o TDH de 5,5 h e de 14% para o TDH de 8,5 h. A alteração do tempo de detenção hidráulica por meio da vazão foi utilizada como foi variável de controle do sistema. Apesar da estabilidade e da possibilidade de separação e recuperação do enxofre, a variável operacional utilizada não permitiu o aumento das remoções e consequente controle do sistema.

Desta forma, outra variável de controle deve ser estudada a fim de aumentar a remoção de sulfeto e ainda assim permitir a sedimentação do mesmo. Outro ponto a ser estudado é o tratamento da fase gasosa, que pode ser realizado pela alteração do pH, como estudado e comprovado no sistema combinado UASB-RMHE ou ainda pela injeção direta do biogás produzido no reator anaeróbio no reator microaerado.

5.5 **Comparação dos sistemas utilizados**

A partir dos resultados obtidos na presente pesquisa, verificou-se a potencialidade do uso de reatores combinados anaeróbio/microaerado para a remoção do sulfeto e conversão a enxofre elementar. A potencialidade do uso de membranas tubulares comerciais de silicone pode ser considerada como alternativa para a microaeração e consequente oxidação parcial do sulfeto a enxofre. Entretanto, ainda é necessário o estudo de condições operacionais que resultem em maiores remoções do sulfeto com períodos de maior estabilidade e também formas de separação do enxofre da biomassa. A Tabela 5.12 apresenta a comparação entre os

sistemas utilizados com os principais resultados obtidos em cada um deles além das hipóteses geradas em cada operação.

Tabela 5.12: Tabela comparativa entre os três sistemas utilizados.

	Sistema Integrado	**Sistema Combinado**	**Sistema Integrado (Garcés et al., dados não publicados)**	**Sistema combinado**
Reatores	**ABFSB + RME**	**UASB + RMHE (mb helicoidal)**	**ABFSB + RMHS (mb helicoidal)**	**ABFSB + RMHS (mb helicoidal)**
Hipóteses	A integração de reator anaeróbio e reator microaerado permitem a redução do sulfato e tratamento do sulfeto produzido	Formação de biomassa promove a estabilidade do sistema	A formação de enxofre na parede externa da membrana pode facilitar a remoção do enxofre produzido.	O desmembramento do sistema integrado em sistema combinado pode permitir a retirada e recuperação do enxofre.
Principais Resultados	- Geração de enxofre com características adequadas para remoção - Instabilidade na remoção de sulfeto	- Remoção estável do sulfeto na fase liquida e (90%) e na fase gasosa (98%). -Enxofre associado a biomassa.	- Remoção estável do sulfeto e desenvolvimento de SOB a partir de biomassa anaeróbia. - Enxofre associado a biomassa.	- Remoção estável do sulfeto. - Sedimentação do enxofre e possibilidade de recuperação.
Desafios práticos	A estabilidade esta associada a troca das membranas. A periodicidade da troca dificulta ou inviabiliza a operação do sistema.	Oclusão da membrana diminui a vida útil do sistema. Separação do enxofre e biomassa se torna um obstáculo.	Recuperação do enxofre. O enxofre formado, se não retirado do sistema, pode ser reoxidado a tiossulfato e sulfato ou ainda reduzido a sulfeto.	Buscar variável que promova o aumento das remoções de sulfeto.
Hipóteses geradas	A formação de biomassa no interior da membrana aumentar na remoção do sulfeto devido à presença de microrganismos sulfeto	A retro lavagem da membrana permite a remoção estável do sulfeto ou a formação de enxofre na parede externa.	O sulfeto pode ser removido de maneira continua e estável em reatores de membrana interna ao meio liquido, desde que a retirada do enxofre elementar formado seja constante.	----

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As considerações relativas a cada sub-hipótese testada são:

- Sub-hipótese 1: A alteração do diâmetro das membranas tubulares permite controle na transferência de massa e pode ser utilizada como forma de controle do sistema.

Hipótese Refutada: O aumento da transferência de massa com o aumento do diâmetro da membrana tubular pôde ser verificado, sendo assim o diâmetro da membrana poderia ser utilizado como variável de controle do sistema. Entretanto, os valores não seguiram a tendência esperada de aumento da transferência pela redução do raio da membrana.

- ✓ A transferência de massa pode ser explicada pela teoria das resistências em série, que descreve a espessura da parede de membranas tubulares como a principal responsável pela resistência à transferência de oxigênio.

- Sub-hipótese 2: A integração de um reator anaeróbio a um reator microaerado que utiliza membranas tubulares de silicone podem promover a redução de sulfato e a conversão do sulfeto a enxofre elementar.

Hipótese Aceita: A utilização de sistemas integrados para remoção do sulfato e sulfeto se mostraram eficientes quanto à formação de enxofre elementar.

- ✓ A remoção de sulfeto dissolvido apresentou baixa média e instabilidade durante a operação, que se mostrou totalmente dependente da periodicidade de troca das membranas tubulares;
- ✓ Os resultados obtidos demonstram que o tempo de detenção hidráulica de 16 e 18 horas para o sistema integrado foram mais adequados para a conversão do sulfeto a enxofre;
- ✓ A imobilização da biomassa na unidade microaerada não promoveu a melhora na remoção de sulfeto, já que a conversão do sulfeto a enxofre é realizada nas paredes da membrana.

- Sub-hipótese 3: A utilização de reatores combinados com a formação de biofilme no interior da membrana pode favorecer a remoção estável do sulfeto e a conversão biológica a enxofre elementar.

Hipótese Aceita: A formação de biofilme no interior da membrana tubular permitiu a remoção estável do sulfeto.

- ✓ Foi verificada remoção máxima de 90% do sulfeto dissolvido;

- ✓ Foi observada a queda na remoção e o aumento das concentrações de sulfeto ao longo do tempo. Tal queda pode estar associada à alteração na comunidade microbiana, comprovada também por análises de biologia molecular.

- Sub-hipótese 4: O sulfeto no biogás pode ser removido pela alteração do pH do meio líquido**.**

Hipótese Aceita: A alteração do pH do meio líquido se mostrou eficiente para a remoção do sulfeto da fase gasosa, o qual foi transferido para a fase líquida e posteriormente removido por microaeração.

- ✓ Foi verificada remoção máxima de 98% do sulfeto em fase gasosa com pH igual a 7,5.

- Sub-hipótese 5: O desmembramento do sistema integrado de membrana helicoidal interna ao meio líquido em sistema combinado pode permitir a separação e recuperação do enxofre.

Hipótese Aceita: O desmembramento do sistema integrado em sistema combinado permitiu a recuperação do enxofre elementar.

- ✓ A remoção de sulfeto permaneceu estável durante a fase com TDH de 5,5 h, com média de remoção de aproximadamente 40%.
- ✓ O enxofre formado ao redor da membrana formou camadas que se rompiam permitindo a sedimentação do material sólido. Desta forma, a remoção periódica do enxofre permitiu a remoção estável do sulfeto.

7 IMPLICAÇÕES PRÁTICAS

O presente estudo foi construído com estudos fundamentais e desenhos de sistemas que permitissem a conversão do sulfeto a enxofre elementar e a posterior recuperação do mesmo. Desta forma, cada sistema estudado tentou buscar e aperfeiçoar o próximo sistema por meio da busca de variáveis operacionais que permitissem maior controle do processo. Os sistemas utilizados nesse estudo apresentaram a conversão do enxofre, porém, também puderam ser elencados alguns fatores que dificultaram a operação dos reatores ou a remoção do sulfeto, a saber:

- ✓ A transferência de massa por meio de membranas tubulares comerciais pode ser controlada pela espessura da parede da membrana, portanto, para o aumento da velocidade de transferência, é preciso reduzir a espessura da mesma. A redução da espessura implica em menores diâmetros para as mangueiras tubulares, o que leva a redução da vida útil do sistema, já que o tubo comercial pode ocluir com maior facilidade. A solução, portanto, é a utilização de membranas tubulares com maior comprimento para o aumento da área de troca e o uso das membranas em disposição helicoidal.
- ✓ Para todos os sistemas estudados ficou claro que a formação do enxofre elementar ocorre nas paredes das membranas. Entretanto, se a retirada e recuperação do enxofre não forem realizadas, o mesmo passa a ser utilizados por microrganismos, também aderidos às paredes, que promovem a oxidação ou mesmo a redução do enxofre, levando à queda da eficiência do sistema. Desta forma, o enxofre deve ser retirado continuamente do sistema.
- ✓ O sistema ABFSB-RME foi estudado com membranas não helicoidais e a formação do enxofre se deu nas paredes internas da membrana, fato que dificultou o controle do processo. Com a formação nas paredes internas o processo de limpeza das membranas se tornou mais difícil e a solução encontrada foi a substituição das membranas em períodos curtos de dois dias. Essa periodicidade pode inviabilizar e encarecer o processo.
- ✓ Com a baixa remoção associada à instabilidade e a necessidade de troca das membranas no sistema ABFSB-RME, o sistema UASB-RMHE foi pensado a fim de viabilizar a remoção estável do sulfeto com a formação de biofilme no interior da mesma. Com o aumento da espessura do biofilme, o sulfeto

não pôde reagir com o oxigênio transferido na membrana, e o enxofre formado na parede, por sua vez, reagiu com o oxigênio. De forma prática, como já realizado em sistema de membranas com biofilme, a retro lavagem pode ser eficiente na retirada da camada que inviabiliza a reação do sulfeto. Entretanto, esse sistema ainda apresenta um desafio quanto à separação do enxofre da biomassa.

- ✓ A estratégia de remoção do H_2S apresentada aqui se mostrou bastante eficiente e pode ser utilizada em qualquer um dos sistemas apresentados. A estratégia é simples e não necessita do uso de alcalinizantes para a remoção do H_2S do biogás e posterior tratamento na fase líquida, como outros processos já estudados. O custo com alcalinizantes para o aumento do pH da fase líquida é menor em relação ao uso de alcalinizantes para o biogás e permite o deslocamento do sulfeto no biogás para a fase líquida para posterior tratamento com microaeração.
- ✓ O uso de sistema combinado com membrana interna ao meio líquido - ABFSB-RMHS permitiu a remoção constante do enxofre produzido e consequente remoção estável do sulfeto. O uso de membrana interna ao meio líquido propiciou a formação do enxofre nas paredes externas da membrana, facilitando assim a ruptura das camadas e a sedimentação do enxofre.
- ✓ Outro aspecto prático que deve ser considerado em futuros trabalhos é quanto à metodologia de separação de enxofre pra posterior análise por meio do estudo da temperatura ideal para que a biomassa presente no enxofre sedimentado possa ser volatilizada evitando a volatilização dos compostos de enxofre.

8 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos na presente pesquisa verificou-se a potencialidade do uso de membranas de silicone em sistemas anaeróbio-microaerado para a remoção de sulfeto e recuperação de enxofre elementar. A conversão do sulfeto a enxofre elementar pôde ser observada em todos os sistemas estudados. Ficou evidente, em todos os sistemas, que remoção do enxofre formado é crucial para a manutenção da eficiência de remoção e conversão do sulfeto, já que o enxofre pode ser reoxidado a outros produtos. Desta forma, a principal conclusão da pesquisa é que é possível promover a remoção do sulfeto e sua conversão a enxofre, porém medidas operacionais devem ser tomadas a fim de controlar o processo de oxidação parcial do sulfeto a enxofre e medidas que promova a recuperação do enxofre produzido.

Com base nas sub-hipóteses e nos objetivos específicos foi possível concluir, mais especificamente, que:

- O controle da transferência de massa por membranas tubulares comerciais de silicone pode ser feita por meio da redução da espessura da parede ou pela disposição helicoidal da mesma no reator.
- O sistema integrado ABFSB-RME permitiu a conversão do sulfeto a enxofre, o qual permaneceu aderido à parede da membrana. Entretanto a periodicidade da troca da membrana se mostrou essencial para uma maior e mais estável remoção do sulfeto.
- O sistema combinado UASB-RMHE apresentou remoção mais estável do sulfeto dissolvido, com valores acima de 90%. A conversão a enxofre foi observada, porém a retro lavagem da membrana é essencial para o aumento da vida útil do sistema.
- A remoção do H_2S no biogás foi observada, com valores acima de 98%, com valor de pH igual 7,5 no sistema UASB-RMHE. A remoção do H_2S no biogás foi realizada por meio do deslocamento de equilíbrio para o meio líquido e posterior remoção do sulfeto dissolvido por microaeração permitiu a limpeza do biogás sem prejudicar a qualidade do mesmo.
- O sistema ABFSB-RMHS permitiu a remoção estável do sulfeto dissolvido e a formação de enxofre nas paredes, o qual sedimentava e podia ser recuperado.

9 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Em função dos resultados obtidos e problemas verificados, sugerem-se alguns pontos a serem considerados em pesquisas futuras:

- Estudos da remoção de sulfeto com membranas tubulares de silicone com menores espessuras;
- Busca por novas variáveis operacionais;
- Aplicação de retro lavagem para biofilme aderido em membranas;
- Melhoria no sistema ABFSB-RMHS para aumento das remoções de sulfeto e consequente aumento na recuperação de enxofre elementar.

10 REFERÊNCIAS

.

ABATZOGLOU, N.; BOIVIN, S. A review of biogas purification processes. **Society of Chemical Industry and John Wiley & Sons, Ltd Biofuels, Bioprod. Bioref. ,** v. 3, p. 42–71, 2008.

ALCANTARA, S. et al. Hydrogen sulfide oxidation by a microbial consortium in a recirculation reactor system: Sulfur formation under oxygen limitation and removal of phenols. **Environmental Science & Technology,** v. 38, n. 3, p. 918-923, 2004. ISSN 0013-936X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000188656000049 >.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, E. A. D. A. W. W. A. W. E. F. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Washington, D.C.: APHA-AWWA-WEF, 2005. ISBN 0875530478 9780875530475.

BOCK, A.-K.; PRIEGER-KRAFT, A.; SCHÖNHEIT, P. Pyruvate — a novel substrate for growth and methane formation in Methanosarcina barkeri. **Archives of Microbiology,** v. 161, n. 1, p. 33-46, 1994/01/01 1994. ISSN 0302-8933. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1007/BF00248891 >.

BRASIL. **Ministério da Saúde. Portaria do Ministério da Saúde, número 518 de 2004..** MINISTÉRIO DA SAÚDE, S. D. V. E. S., COORDENAÇÃO-GERAL DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE AMBIENTAL. Brasília: Editora do Ministério da Saúde 2004.

BRINDLE, K.; STEPHENSON, T. The application of membrane biological reactors for the treatment of wastewaters. **Biotechnology and Bioengineering,** v. 49, n. 6, p. 601-610, 1996. ISSN 1097-0290. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-0290(19960320)49:6<601::AID-BIT1>3.0.CO;2-S >.

BRINDLE, K.; STEPHENSON, T.; SEMMENS, M. J. Nitrification and oxygen utilisation in a membrane aeration bioreactor. **Journal of Membrane Science,** v. 144, n. 1–2, p. 197-209, 1998. ISSN 0376-7388. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0376738898000477 >.

BROOKES, P. R.; LIVINGSTON, A. G. Aqueous-aqueous extraction of organic pollutants through tubular silicone rubber membranes. **Journal of Membrane Science,** v. 104, n. 1–2, p. 119-137, 1995. ISSN 0376-7388. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/037673889500020D >.

BUISMAN, C. et al. Biotechnological process for sulphide removal with sulphur reclamation. **Acta Biotechnologica,** v. 9, n. 3, p. 255-267, 1989. ISSN 1521-3846. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1002/abio.370090313 >.

BUISMAN, C. J. N.; LETTINGA, G. Sulphide Removal From Anaerobic Waste Treatment Efluent of a Papermill. **Water Research,** v. 24, p. 313-319, 1990.

CAMILOTI, P. R. **Recuperação de enxofre elementar em reatores microaerados**. 2012. 115 Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

CAMILOTI, P. R. et al. Innovative anaerobic bioreactor with fixed-structured bed (ABFSB) for simultaneous sulfate reduction and organic matter removal. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology,** v. 89, n. 7, p. 1044-1050, 2013. ISSN 1097-4660. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1002/jctb.4199 >.

CASEY, E.; GLENNON, B.; HAMER, G. Oxygen mass transfer characteristics in a membrane-aerated biofilm reactor. **Biotechnology and Bioengineering,** v. 62, n. 2, p. 183-192, 1999a. ISSN 1097-0290. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-0290(19990120)62:2<183::AID-BIT8>3.0.CO >.

CASEY, E.; GLENNON, B.; HAMER, G. Review of membrane aerated biofilm reactors. **Resources, Conservation and Recycling,** v. 27, n. 1–2, p. 203-215, 1999b. ISSN 0921-3449. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921344999000075 >.

CHEN, K. Y.; MORRIS, J. C. Kinetics of oxidation of aqueous sulfide by oxygen. **Environmental Science & Technology,** v. 6, n. 6, p. 529-537, 1972/06/01 1972. ISSN 0013-936X. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1021/es60065a008 >. Acesso em: 2014/05/17.

COLLERAN, E.; FINNEGAN, S.; LENS, P. Anaerobic treatment of sulphate-containing waste streams. **Antonie van Leeuwenhoek,** v. 67, n. 1, p. 29-46, 1995/03/01 1995. ISSN 0003-6072. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1007/BF00872194 >.

CORK, D. J. Microbial Conversion of Sulfate to Sulfur - An Alternative to Gypsum Synthesis. **Adv. Biotechnol. Process,** v. 4, p. 16, 1985.

CÔTÉ, P.; BERSILLON, J.-L.; HUYARD, A. Bubble-free aeration using membranes: mass transfer analysis. **Journal of Membrane Science,** v. 47, n. 1–2, p. 91-106, 1989. ISSN 0376-7388. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0376738800808625 >.

COTTER, S. W. **Partial nitrification and oxygen transfer analysis utilizing hollow fiber membrane aeration**. 2010. 68 (master). Iowa State University, Ames, Iowa.

DAMIANOVIC, M. H. R. F., E. Anaerobic Degradation of Synthetic Wastewaters at Different Levels of Sulfate and COD/Sulfate Ratios in Horizontal-Flow Anaerobic Reactors (HAIB). **Enviromental Enginnering Science,** v. 24, n. 3, p. 10, 2007.

DAMIANOVIC, M. H. R. Z.; FORESTI, E. Dynamics of sulfidogenesis associated to methanogenesis in horizontal-flow anaerobic immobilized biomass reactor. **Process Biochemistry,** v. 44, n. 9, p. 1050-1054, 2009. ISSN 1359-5113. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S135951130900141X >.

DEBUS, O.; WANNER, O. Degradation of Xylene by a Biofilm Growing on a Gas-Permeable Membrane. **Water Science & Technology,** v. 26, n. 3-4, p. 10, 1992.

DÍAZ, I. et al. Effect of oxygen dosing point and mixing on the microaerobic removal of hydrogen sulphide in sludge digesters. **Bioresource Technology,** v. 102, n. 4, p. 3768-3775, 2011. ISSN 0960-8524. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852410019462 >.

FILHO, J. L. R. P. **Avaliação da utilização de diferentes materiais suportes na biofiltração de sulfeto de hidrogênio**. 2008. Escola de Engenhari de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos - SP.

FORESTI, E. et al. Horizontal-flow anaerobic immobilized sludge (HAIS) reactor for paper industry wastewater treatment. Proceedings of the 50th Industrial Waste Conference 1995, Purdue University, West Lafayette. Ann Arbor Press. p.7.

FUESS, L. T. **Potencial contaminante e energético da vinhaça: riscos de contaminação ao solo e recursos hídricos e recuperação de**

energia a partir da digestão anaeróbia 2013. Instituto de Geociências e Ciências Exatas Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro-SP.

GABELMAN, A.; HWANG, S.-T. Hollow fiber membrane contactors. **Journal of Membrane Science,** v. 159, n. 1–2, p. 61-106, 1999. ISSN 0376-7388. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037673889900040X >.

GIJS KUENEN, J. Colourless sulfur bacteria and their role in the sulfur cycle. **Plant and Soil,** v. 43, n. 1-3, p. 49-76, 1975/08/01 1975. ISSN 0032-079X. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1007/BF01928476 >.

GODOI, L. A. G. **Interferência da sulfetogênese na produção de metano a partir de águas residuárias ricas em carboidratos**. 2014. 98 Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Carlos, São Carlos.

GONZALEZ-SANCHEZ, A.; REVAH, S. The effect of chemical oxidation on the biological sulfide oxidation by an alkaliphilic sulfoxidizing bacterial consortium. **Enzyme and Microbial Technology,** v. 40, n. 2, p. 292-298, 2007. ISSN 0141-0229. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000243603500016 >.

GRIFFITHS, R. I., WHITELEY, A.S., O'DONNELL, A.G., BAILEY, M.J. Rapid method for coextraction of DNA and RNA from natural environments for analysis of ribosomal DNA- and rRNA-based microbial community composition. **Appl Environ Microbiol,** v. 66, 2000.

HARTLER, N.; LIBERT, J.; TEDER, A. Rate of Sulfur Dissolution in Aqueous Sodium Sulfide. **Industrial & Engineering Chemistry Process Design and Development,** v. 6, n. 4, p. 398-406, 1967/10/01 1967. ISSN 0196-4305. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1021/i260024a002 >.

HUSSAIN, A. et al. Use of silicone membranes to enhance gas transfer during microbial fuel cell operation on carbon monoxide. **Bioresource Technology,** v. 102, n. 23, p. 10898-10906, 2011. ISSN 0960-8524. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852411013459 >.

JANSSEN, A. et al. Surface characteristics and aggregation of microbiologically produced sulphur particles in relation to the process conditions. **Colloids and Surfaces B-Biointerfaces,** v. 6, n. 2, p. 115-129, 1996. ISSN 0927-7765. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1996UB38700006 >.

JANSSEN, A. et al. Biological sulphide oxidation in a fed-batch reactor. **Biotechnol. Bioeng.,** v. 47, n. 3, p. 327 - 333., 1995.

JANSSEN, A. J. H.; LETTINGA, G.; DE KEIZER, A. Removal of hydrogen sulphide from wastewater and waste gases by biological conversion to elemental sulphur - Colloidal and interfacial aspects of biologically produced sulphur particles. **Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects,** v. 151, n. 1-2, p. 389-397, 1999. ISSN 0927-7757. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000080033000035 >.

JANSSEN, A. J. H. et al. Performance of a sulfide-oxidizing expanded-bed reactor supplied with dissolved oxygen. **Biotechnology and Bioengineering,** v. 53, n. 1, p. 32-40, 1997. ISSN 0006-3592. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1997VY22600006 >.

JANSSEN, A. J. H. et al. Application of the redox potential for controlling a sulfide oxidizing bioreactor. **Biotechnology and Bioengineering,** v. 60, n. 2, p. 147-155, 1998. ISSN 0006-3592. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000075909300002 >.

JANSSEN, P.; LIESACK, W.; SCHINK, B. Geovibrio thiophilus sp. nov., a novel sulfur-reducing bacterium belonging to the phylum Deferribacteres. **Int J Syst Evol Microbiol,** v. 52, 2002.

KAUFHOLD, D. et al. Generation of Dean vortices and enhancement of oxygen transfer rates in membrane contactors for different hollow fiber geometries. **Journal of Membrane Science,** v. 423–424, n. 0, p. 342-347, 2012. ISSN 0376-7388. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0376738812006345 >.

KLEINJAN, W. E.; DE KEIZER, A.; JANSSEN, A. J. H. Equilibrium of the reaction between dissolved sodium sulfide and biologically produced sulfur. **Colloids and Surfaces B-Biointerfaces,** v. 43, n. 3-4, p. 228-237, 2005a. ISSN 0927-7765. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000230575900017 >.

KLEINJAN, W. E.; DE KEIZER, A.; JANSSEN, A. J. H. Kinetics of the chemical oxidation of polysulfide anions in aqueous solution. **Water Research,** v. 39, n. 17, p. 4093-4100, 2005b. ISSN 0043-1354. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000233261000005 >.

KOBAYASHI, H. A.; STENSTROM, M.; MAH, R. A. Use of photosynthetic bacteria for hydrogen sulfide removal from anaerobic waste treatment effluent. **Water Research,** v. 17, n. 5, p. 579-587, 1983. ISSN 0043-1354. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0043135483901173 >.

KODAMA, Y., AND WATANABE, K. . Sulfuricurvum kujiense gen. nov., sp. nov., a facultatively anaerobic, chemolithoautotrophic, sulfur-oxidizing bacterium isolated from an underground crude-oil storage cavity. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol,** v. 54, p. 4, 2004.

KRZYWINSKI, M. et al. Circos: An information aesthetic for comparative genomics. **Genome Research,** v. 19, n. 9, p. 1639-1645, September 1, 2009 2009. Disponível em: < http://genome.cshlp.org/content/19/9/1639.abstract >.

KUHL, M.; JORGENSEN, B. B. Microsensor measurements of sulfate reduction and sulfide oxidation in compact microbial communities of aerobic biofilms. **Appl Environ Microbiol,** v. 58, p. 10, 1992.

LENS, P. N. L.; KUENEN, J. G. The biological sulfur cycle: novel opportunities for environmental biotechnology. **Water Science and Technology,** v. 44, n. 8, p. 57-66, 2001. ISSN 0273-1223. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000172510100009 >.

LENS, P. N. L.; KUENEN, J. G. The biological sulfur cycle: novel opportunities for Environmental biotechnology. **Water Science and Technology,** v. 14(8), p. 57-66, 2001.

LENS, P. N. L. et al. Biotechnological treatment of sulfate-rich wastewaters. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology,** v. 28, n. 1, p. 41-88, 1998. ISSN 1064-3389. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000071885300002 >.

LIVINGSTON, A. G. Extractive membrane bioreactors: A new process technology for detoxifying chemical industry wastewaters. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology,** v. 60, n. 2, p. 117-124, 1994. ISSN 1097-4660. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1002/jctb.280600202 >.

LLOYD, D. Hydrogen sulfide: clandestine microbial messenger? **Trends in Microbiology,** v. 14, n. 10, p. 456-462, 2006. ISSN 0966-842X. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0966842X06001880 >.

LOHWACHARIN, J.; ANNACHHATRE, A. P. Biological sulfide oxidation in an airlift bioreactor. **Bioresource Technology,** v. 101, n. 7, p. 2114-2120, 2010. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000274609900007 >.

MANCONI, I.; CARUCCI, A.; LENS, P. Combined removal of sulfur compounds and nitrate by autotrophic denitrification in bioaugmented activated sludge system. **Biotechnology and Bioengineering,** v. 98, n. 3, p. 551-560, 2007. ISSN 1097-0290. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1002/bit.21383 >.

MANCONI, I.; LENS, P. N. L. Removal of H2S and volatile organic sulfur compounds by silicone membrane extraction. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology,** v. 84, n. 1, p. 69-77, 2009. ISSN 1097-4660. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1002/jctb.2008 >.

MOCKAITIS, G. **Remoção de Cd2+ e Cu2+ de Águas Residuárias utilizando Biorreator Anaeróbio Contínuo de Leito Fixo Ordenado. São Carlos**. 2011. 322 Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

MOCKAITIS, G. et al. Continuous anaerobic bioreactor with a fixed-structure bed (ABFSB) for wastewater treatment with low solids and low applied organic loading content. **Bioprocess and Biosystems Engineering,** v. 37, n. 7, p. 1361-1368, 2014/07/01 2014. ISSN 1615-7591. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1007/s00449-013-1108-y >.

MORAES, B. S.; ORRÚ, J. G. T.; FORESTI, E. Nitrogen and sulfide removal from effluent of UASB reactor in a sequencing fed-batch biofilm reactor under intermittent aeration. **Journal of Biotechnology,** v. 164, n. 3, p. 378-385, 2013. ISSN 0168-1656. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168165612003707 >.

MORAES, B. S.; SOUZA, T. S. O.; FORESTI, E. Effect of sulfide concentration on autotrophic denitrification from nitrate and nitrite in vertical fixed-bed reactors. **Process Biochemistry,** v. 47, n. 9, p. 1395-1401, 2012. ISSN 1359-5113. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511312002000 >.

MOULIN, P. et al. Mass transfer improvement by secondary flows: Dean vortices in coiled tubular membranes. **Journal of Membrane Science,** v. 114, n. 2, p. 235-244, 1996. ISSN 0376-7388. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0376738895003231 >.

MUNASINGHE, P. C.; KHANAL, S. K. Syngas fermentation to biofuel: Evaluation of carbon monoxide mass transfer coefficient (kLa) in different reactor configurations. **Biotechnology Progress,** v. 26, n. 6, p. 1616-1621, 2010. ISSN 1520-6033. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1002/btpr.473 >.

MUYZER, G.; STAMS, A. J. M. The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. **Nat Rev Micro,** v. 6, n. 6, p. 441-454, 2008. ISSN 1740-1526. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro1892 >.

NIOSH, T. N. I. F. O. S. A. H., NIOSH. Hydrogen Sulfide. Clifton Road, Atlanta, 2014.

OKABE, S. et al. Spatial microbial distributions of nitrifiers and heterotrophs in mixed population biofilms. **Biotechnol Bioeng** v. 50, n. 24, p. 11, 1996.

POKASOOWAN, C. et al. Investigation on laboratory and pilot-scale airlift sulfide oxidation reactor under varying sulfide loading rate. **Journal of Environmental Science and Health, Part A,** v. 44, n. 1, p. 87-98, 2009/01/01 2009. ISSN 1093-4529. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1080/10934520802515426 >. Acesso em: 2014/08/11.

RAGHUNATH, B.; HWANG, S. T. General treatment of liquid-phase boundary layer resistance in the pervaporation of dilute aqueous organics through tubular membranes. **Journal of Membrane Science,** v. 75, n. 1–2, p. 29-46, 1992. ISSN 0376-7388. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0376738892800044 >.

ROBB, W. L. THIN SILICONE MEMBRANES-THEIR PERMEATION PROPERTIES AND SOME APPLICATIONS. **Annals of the New York Academy of Sciences,** v. 146, n. 1, p. 119-137, 1968. ISSN 1749-6632. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-6632.1968.tb20277.x >.

RODRIGUEZ, R. P. **Aplicação de reatores anaeróbios para remoção de sulfato de águas de drenagem ácida de minas**. 2010. 174 Engenharia Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Paulo, São Carlos.

RODRIGUEZ, R. P. et al. Assessment of a UASB reactor for the removal of sulfate from acid mine water. **International Biodeterioration & Biodegradation,** v. 74, p. 48-53, 2012. ISSN 0964-8305. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0964830512002016 >.

SARTI, A. Z., M. Anaerobic treatment of sulfate-rich wastewater in an anaerobic sequential batch reactor (AnSBR) using butanol as the carbon source. **Journal of Environmental Management,** v. 92, p. 5, 2011.

SILVA, A. J. et al. Sulphate removal from industrial wastewater using a packed-bed anaerobic reactor. **Process Biochemistry,** v. 37, n. 9, p. 927-935, 2002. ISSN 1359-5113. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032959201002977 >.

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

STEUDEL, R. Mechanism for the Formation of Elemental Sulfur from Aqueous Sulfide in Chemical and Microbiological Desulfurization Processes. **Industrial & Engineering Chemistry Research,** v. 35, n. 4, p. 1417-1423, 1996/01/01 1996. ISSN 0888-5885. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1021/ie950558t >. Acesso em: 2014/06/19.

SUBLETTE, K. L. Microbial treatment of sour gases for the removal and oxidation of hydrogen sulphide. **Gas Separation Et Purification** v. 4, p. 91-96, 1990.

SUBLETTE, K. L.; SYLVESTER, N. D. Oxidation of hydrogen sulfide by Thiobacillus denitrificans: Desulfurization of natural gas. **Biotechnology and Bioengineering,** v. 29, n. 2, p. 249-257, 1987. ISSN 1097-0290. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1002/bit.260290216 >.

SUNG, Y. et al. Geobacter lovleyi sp. nov. Strain SZ, a Novel Metal-Reducing and Tetrachloroethene-Dechlorinating Bacterium. **Applied and Environmental Microbiology** v. 72, n. 4, 2006.

SUZUKI, Y. M., S.; TAKEISHI, K. Oxygen Supply Method Using Gas-Permeable Film for Wastewater Treatment. **Water Science & Technology** v. 28, n. 7, p. 8, 1994.

SYED, M. et al. Removal of hydrogen sulfide from gas streams using biological processes - A review. **Canadian Biosystems Enginnering,** v. 48, p. 2.1 - 2.14, 2006.

TERADA, A. et al. Nitrogen removal characteristics and biofilm analysis of a membrane-aerated biofilm reactor applicable to high-strength nitrogenous wastewater treatment. **Journal of Bioscience and Bioengineering,** v. 95, n. 2, p. 170-178, 2003. ISSN 1389-1723. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S138917230380124X >.

TICHY, R. et al. POSSIBILITIES FOR USING BIOLOGICALLY-PRODUCED SULFUR FOR CULTIVATION OF THIOBACILLI WITH RESPECT TO BIOLEACHING PROCESSES. **Bioresource Technology,** v. 48, n. 3, p. 221-227, 1994. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1994PE68300005 >.

TICHY, R. et al. Oxidation of biologically-produced sulphur in a continuous mixed-suspension reactor. **Water Research,** v. 32, n. 3, p. 701-710, 1998. ISSN 0043-1354. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000072231600020 >.

TIMBERLAKE, D. L.; STRAND, S. E.; WILLIAMSON, K. J. Combined aerobic heterotrophic oxidation, nitrification and denitrification in a permeable-support biofilm. **Water Research,** v. 22, n. 12, p. 1513-1517, 1988. ISSN 0043-1354. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0043135488901637 >.

WATSON, J. M.; ZHANG, G. S.; PAYNE, P. A. The diffusion mechanism in silicone rubber. **Journal of Membrane Science,** v. 73, n. 1, p. 55-71, 1992. ISSN 0376-7388. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/037673889280186N >.

WILDERER, P. A.; BRÄUTIGAM, J.; SEKOULOV, I. Application of gas permeable membranes for auxiliary oxygenation of sequencing batch reactors. **Conservation & Recycling,** v. 8, n. 1–2, p. 181-192, 1985. ISSN 0361-3658. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0361365885900359 >.

WOOLARD, C. R.; IRVINE, R. L. Biological Treatment of Hypersaline Wastewater by a Biofilm of Halophilic Bacteria. **Water Environment Research,** v. 66, n. 3, p. 230-235, 1994. ISSN 10614303. Disponível em: < http://www.jstor.org/stable/25164692 >.

YAMAGIWA, K.; OHKAWA, A.; HIRASA, O. Simultaneous Organic Carbon Removal and Nitrification by Biofilm Formed on Oxygen Enrichment Membrane. **JOURNAL OF CHEMICAL ENGINEERING OF JAPAN,** v. 27, n. 5, p. 638-643, 1994.

YAMAGIWA, K. et al. A new oxygen supply method for simultaneous organic carbon removal and nitrification by a one-stage biofilm process. **Water Science and**

Technology, v. 37, n. 4–5, p. 117-124, 1998. ISSN 0273-1223. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0273122398000936 >.